



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ  
ÚSTAV CHEMIE MATERIÁLŮ

FACULTY OF CHEMISTRY  
INSTITUTE OF MATERIALS SCIENCE

# MODIFIKACE POLYHYDROXYBUTYRÁTU ROUBOVÁNÍM FUNKČNÍCH SKUPIN

POLYHYDROXYBUTYRATE MODIFICATION BY GRAFTING OF FUNCTIONAL GROUPS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

VERONIKA MELČOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Mgr. RADEK PŘIKRYL, Ph.D.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	<b>FCH-BAK0848/2014</b>	Akademický rok: <b>2014/2015</b>
Ústav:	Ústav chemie materiálů	
Student(ka):	<b>Veronika Melčová</b>	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Chemie, technologie a vlastnosti materiálů (2808R016)	
Vedoucí práce	<b>Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.</b>	
Konzultanti:		

### Název bakalářské práce:

Modifikace polyhydroxybutyrátu roubováním funkčních skupin

### Zadání bakalářské práce:

Studium možných metod roubování funkčních skupin na poly-3-hydroxybutyrát (PHB) a změny jeho vlastností. Zpracování rešerše na téma chemické modifikace PHB a realizace vybrané metody. Charakterizace vlastností modifikovaného PHB.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Veronika Melčová  
Student(ka)

-----  
Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
prof. RNDr. Josef Jančář, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## ABSTRAKT

Předložená bakalářská práce se zabývá charakterizací vlivu chemické úpravy na termické a mechanické vlastnosti poly(3-hydroxybutyrátu). Pro studium byly vybrány dvě metody, a to chlorace a fluorace PHB.

Cílem teoretické části práce bylo vytvořit ucelenou literární rešerši obsahující základní informace o polyhydroxybutyrátu a nejnovější poznatky o možnostech chemických úprav tohoto polymeru. Obsahem experimentální části je samotná chemická úprava materiálu, dále příprava vzorků k měření a provedení vybraných analýz. Chemicky roubované polymery byly podrobeny termogravimetrické analýze za účelem stanovení jejich termické stability. Pomocí diferenční kompenzační kalorimetrie byly sledovány entalpické změny v materiálu. Také byla sledována neizotermní krystalizace vzorků za účelem zhodnocení vlivu naroubovaného atomu halogenu na nukleační aktivitu polymeru. Vybrané vzorky byly podrobeny také dynamicko-mechanické analýze a tahové zkoušce.

## ABSTRACT

Presented bachelor thesis deals with a characterization of the effect of chemical grafting on thermal and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate). Two grafting methods were chosen, chlorination and fluorination of PHB.

The aim of the theoretical part of the work was to create a complete literature review containing basic information about polyhydroxybutyrate and the latest scientific evidence about possibilities of chemical modification of this polymer. The experimental part describes the chemical treatment of the material itself, as well as preparation of samples for testing and performing the selected analysis. Chemically grafted polymers were subjected to thermogravimetric analysis to determine their thermal stability. Thermal behavior of materials was studied by differential scanning calorimetry. Also non-isothermal crystallization of samples was observed in order to evaluate the influence of the grafted halogen atom onto the nucleation activity of the polymer. Selected samples were also subjected to dynamic mechanical analysis and tensile test.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Poly(3-hydroxybutyrát), chlorace, fluorace, termogravimetrická analýza, diferenční kompenzační kalorimetrie, neizotermní krystalizace, nukleační aktivita

## KEYWORDS

Poly(3-hydroxybutyrate), chlorination, fluorination, thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry, non-isothermal crystallization, nucleation activity

MELČOVÁ, V. Modifikace polyhydroxybutyrátu roubováním funkčních skupin. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 61 s. Vedoucí bakalářské práce Mgr. Radek Přikryl, Ph.D.

### **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

### **PODĚKOVÁNÍ**

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu práce Mgr. Radku Přikrylovi, Ph.D., bez jehož trpělivosti, času, otázek, nucení do práce a cenných rad by tato práce nikdy mohla vzniknout. Dále bych chtěla poděkovat svému příteli za záchranu v nejtěžších chvílích tvůrčího procesu a své rodině a přátelům za to, že mi dopřáli i chvíle oddechu.

## OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	Teoretická část.....	8
2.1	Co je polyhydroxybutyrát.....	8
2.1.1	Syntéza PHB.....	8
2.1.1.1	Produkce PHB kultivací mikroorganismů.....	8
2.1.1.2	Produkce PHB v transgenních rostlinách.....	9
2.1.2	Fyzikální vlastnosti PHB.....	10
2.1.2.1	Biodegradabilita.....	11
2.1.2.2	Krystalinita a krystalová struktura.....	12
2.1.3	Využití.....	13
2.2	Modifikace vlastností PHB.....	14
2.2.1	Kopolymerizace PHB.....	14
2.2.1.1	Kopolymery PHB vzniklé úpravou podmínek fermentace.....	14
2.2.1.2	Kopolymery vzniklé chemickou úpravou PHB.....	16
2.2.2	Přídavek aditiv.....	16
2.2.3	Mísení PHB s dalšími polymery.....	17
2.2.4	Modifikace roubováním funkčních skupin – chlorace.....	18
2.2.5	Roubování maleinanhydridu.....	19
2.3	Charakterizace vlastností PHB.....	19
2.3.1	Termická analýza.....	19
2.3.1.1	Termogravimetrická analýza (TGA).....	19
2.3.1.2	Diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC).....	19
2.3.1.3	Dynamická mechanická analýza (DMA).....	20
2.3.2	Mechanická analýza.....	21
2.3.2.1	Tahová zkouška.....	21
3	Experimentální část.....	23
3.1	Použité materiály.....	23
3.2	Chemické roubování materiálů.....	23
3.2.1	Chlorace PHB14.....	23
3.2.1.1	Stanovení obsahu chloru.....	25
3.2.2	Fluorace PHB.....	26
3.2.2.1	Stanovení obsahu fluoru.....	27
3.3	Příprava vzorků pro DMA a tahovou zkoušku.....	27
3.4	Termická analýza.....	27

3.4.1	Termogravimetrická analýza .....	27
3.4.2	Diferenční kompenzační kalorimetrie .....	28
3.4.2.1	Izotermická krystalizace .....	28
3.4.2.2	Neizotermická krystalizace.....	29
3.4.3	Dynamická mechanická analýza.....	30
3.5	Mechanická analýza.....	30
3.5.1	Tahová zkouška .....	30
4	Výsledky a diskuze.....	31
4.1	Vlastnosti chlorovaného PHB.....	31
4.2	Vlastnosti fluorovaného PHB .....	35
4.3	Mechanické vlastnosti fluorovaného PHB .....	42
5	ZÁVĚR.....	43
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	45
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	53
8	SEZNAM PŘÍLOH.....	55
9	PŘÍLOHY.....	56

# 1 ÚVOD

Lidé už od pravěku věděli, že pro další technický pokrok je nesmírně důležité kromě technologie mít také vhodný aplikační materiál. Od doby kamenné se tak přes dobu bronzovou a železnou dostávali k dalším materiálům, které jim postupně zjednodušovaly život a přinášely nové možnosti. Následovalo osvojení si práce se dřevem, keramickými materiály, betonem, sklem, dalšími kovy atd.

První polovina 20. století byla počátkem nastupující éry nového materiálu, syntetického plastu. Dnes se tyto polymerní materiály staly nezbytnými pro každodenní život, setkáváme se s nimi v domácnosti, v práci, při sportu i ve volném čase. Plasty dnes nahrazují klasické materiály jako dřevo, kovy a keramiku, a to díky svým flexibilním vlastnostem, chemické stálosti a nízké výrobní ceně. Roční spotřeba plastů je okolo 230 miliónů tun a předpokládá se další růst. Na druhé straně, většina plastových materiálů je určena pro jednorázové použití, například obalové materiály, a tak se 50–60 % vyrobeného množství vyhodí. Navíc, tyto materiály oplývají velmi nízkou rychlostí degradace, jejich poločas rozpadu se odhaduje na více než 500 let. Kvůli silným přitažlivým silám uvnitř makromolekuly nedokáže jejich komplexní strukturu narušit ani působení prostředí ani mikroorganismy [1], [2]. Následkem toho je hromadění plastového odpadu na skládkách, což má velmi negativní dopad na životní prostředí. Kromě toho, pro výrobu syntetických plastů se používá ropa, jejíž zásoby jsou předmětem mnoha diskusí a její cena mnoha spekulací.

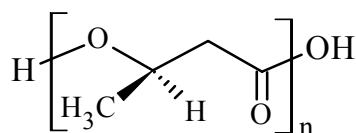
Ze všech těchto důvodů dnes vědci a ekologové hledají nové materiály, které by disponovaly žádanými mechanickými vlastnostmi, byly cenově dostupné a šetrnější k přírodě. V současné době je v popředí zájmu vývoj biopolymerů. Velice atraktivními vlastnostmi těchto látek může být jejich přirozená, a proti syntetickým plastům velmi rychlá, schopnost biodegradace a samozřejmě fakt, že je lze produkovat z obnovitelných zdrojů. Biopolymery mohou vzniknout úpravou zemědělských surovin nebo být produkovány organismy, rostlinami, mikroorganismy či živočichy. V prvním případě se jedná například o modifikovaný škrob, celulózu, chitin, kukuřičný zein, pšeničný lepek, kolagen a další. Do druhé kategorie patří skupina látek nazývaných polyhydroxyalkanoáty, bakteriální celulóza, kyselina polymléčná a polyglykolová [3].

Název polyhydroxyalkanoáty (PHA) reprezentuje skupinu polyesterů různých chemických struktur, doposud bylo zjištěno 150 monomerních jednotek, ze kterých mohou vznikat jak tyto polymery, tak kopolymery [1]. Nejběžněji se vyskytují PHA s krátkým řetězcem (scl-PHA), ty obsahují 3–5 uhlíkových atomů, a mezi ně patří i předmět této práce, polyhydroxybutyrát (PHB). Tento materiál má velký potenciál pro budoucí využití. Mohl by například konkurovat komerčním plastům polypropylenu a polyethylenu jako obalový materiál nové generace.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Co je polyhydroxybutyrát

Poly(3-hydroxybutyrát) (P3HB, zkráceně PHB) je polyester  $\beta$ -hydroxybutanové kyseliny, v jehož řetězci karboxylová skupina jednoho monomeru tvoří esterovou vazbu s hydroxylovou skupinou druhého monomeru (obrázek 1). Uhlíkový atom, na němž se nachází zmíněná hydroxylová skupina, je konfigurace *R*, takže celá makromolekula je opticky aktivní [4].



Obr. 1 Schéma struktury poly(3-hydroxybutyrátu) [4]

Poprvé popsal PHB Maurice Lemione v roce 1926 u bakterie *Bacillus megaterium*. Později bylo zjištěno, že je tento polymer tvořen jako zásobní forma energie, když se organismus nachází v nevyvážených podmínkách charakteristických nadbytkem zdroje uhlíku a nedostatkem fosforu a dusíku. Při nedostatku živin pak PHB zmírňuje degradaci buňky [2],[4]. Bylo zjištěno, že v cytoplasmě buněk *Bacillus megaterium* se PHB nachází v amorfním stavu ve formě kulovitých granulí s průměrem od 0,2  $\mu\text{m}$  do 0,7  $\mu\text{m}$ , které jsou nerozpustné ve vodě. Tyto inkluze jsou ohraničené tenkou membránou z proteinů a lipidů, na jejímž povrchu se nachází enzymy důležité pro jeho metabolismus, PHA syntetáza a depolymeráza [4],[5].

Výskyt PHB byl prokázán u řady gram-pozitivních i gram-negativních bakterií i u skupiny archaea. PHA s nízkou molekulovou hmotností se také nacházejí v membránách kvasinek, rostlin a zvířat a také v cytoplazmatické membráně a cytoplasmě *Escherichia coli* [6],[7].

#### 2.1.1 Syntéza PHB

PHB lze přirozeně získat biologickým přístupem *in vivo* pomocí fermentace bakterií. Mezi její výhody patří používání obnovitelných zdrojů, zároveň se kultivace provádí ve vodném roztoku za normální teploty a tlaku a nevzniká žádný toxický odpad. Na druhé straně má tento způsob řadu nevýhod, kvůli kterým je proces poměrně drahý a tento materiál není schopen konkurovat komerčně vyráběným plastům, jako polypropylenu nebo polyethylenu. Mezi slabiny patří časová náročnost, spotřeba vody, energie a nízký výtěžek [8]. V dnešní době je také díky úrovni genetického inženýrství možné produkovat PHB pomocí transgenních rostlin. To je ekonomicky výhodné, protože není potřeba externího zdroje energie. Pro tvorbu PHA slouží výborně také některé kmeny řas díky vysoké výtěžnosti produkce a své přizpůsobivosti prostředí [3].

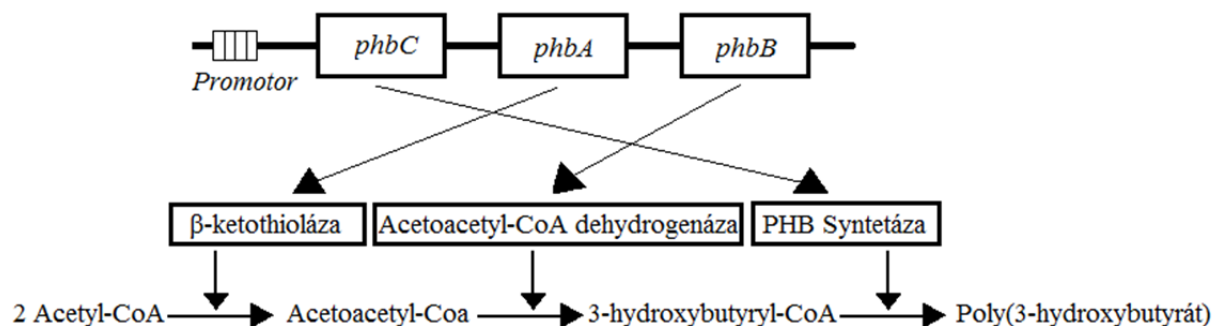
##### 2.1.1.1 Produkce PHB kultivací mikroorganismů

Za optimálních podmínek dosahuje obsah PHB až 80 % buněčné sušiny. Jako zdroj uhlíku mohou být použity substráty z obnovitelných zdrojů (sacharóza, škrob, celulóza, triglyceridy, pšenice), z vedlejších produktů (melasa, syrovátka, glycerin, kukuřičný výluh, rýžové otruby), fosilních zdrojů (methan, hnědé či černé uhlí, minerální oleje) a z odpadů (odpadní voda, palmitový olej či aktivované kaly odpadní vody) [1].

Do dnešní doby bylo objeveno osm mechanismů vedoucích ke tvorbě PHA [9]. Nejdůležitější z nich je popsán první způsob, který vede ke vzniku PHB, a jehož zástupcem je například



*Ralstonia eutropha* (dříve *Alcaligenes eutrophus*) (obrázek 2). První krok tohoto mechanismu je sloučení dvou molekul acetyl-CoA za vzniku acetoacetyl-CoA, katalyzované enzymem  $\beta$ -ketothiolázou, kterou kóduje gen *phbA*. NADPH-závislá acetoacetyl-CoA dehydrogenáza, kódovaná genem *phbB*, acetoacetyl-CoA dále přeměňuje na (R)-3-hydroxybutyryl-CoA. Třetí a poslední krok je polymerační reakce za vzniku PHB katalyzovaná PHB syntetázou, enzymem, který je kódován genem *phbC* [4],[5],[10].



Obr. 2 Schéma mechanismu tvorby PHB [7]

Představitel tohoto způsobu tvorby PHB, *Ralstonia eutropha*, je schopná akumulovat velká množství PHB z jednoduchých uhlíkových zdrojů, jako glukózy, fruktózy či kyseliny octové. Byly provedeny také studie s kyselinou mléčnou, oxidem uhličitým, či rostlinnými oleji jako substráty [10]. Při použití glukózy bylo po fermentaci dlouhé 74 h dosaženo 82 % obsahu polymeru v sušině a nejvyšší produkce  $3,14 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  [11].

Pro průmyslovou produkci PHB jsou však nejčastěji uvažovány bakterie *Alcaligenes latus* a rekombinantní *Escherichia coli*, do které byly vloženy geny z *R. eutropha*. *A. latus* také vytváří PHB z levných zdrojů (melasa, cukrový sirup) a ve srovnatelném množství s *R. eutropha*. Navíc tato bakterie patří do skupiny těch, které produkují PHA během svého růstu, díky čemuž je proces rychlejší [10]. S použitím omezení přísunu dusíku bylo po osmi hodinách dosaženo rychlosti produkce  $4,94 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  a 88 % obsahu PHB v sušině. Po šestnácti hodinách se produkce zvýšila na  $5,13 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  [12].

Bakterie *Escherichia coli* není přirozeně schopna produkovat či degradovat PHA. Po genetické stránce je ale výborně prozkoumaná a je vhodná pro aplikace genetického inženýrství. Na rozdíl od *R. eutropha* může být použita pro tvorbu scl-PHA (počet uhlíků monomeru 3–5) i mcl-PHA (počet uhlíků monomeru 6–14) [4]. Syntéza PHB pomocí rekombinantní *E. coli* nevyžaduje specifické omezení živin, je závislá pouze na množství acetyl-CoA. Mezi výhody využití tohoto organismu patří značná rychlost růstu, vysoká buněčná hustota, možnost použít výhodné zdroje uhlíku (glukóza, sacharóza, laktóza, melasa atd.) a snadné čištění [5]. Nejvyšší produktivita byla zatím dosažena po 44 hodinách fermentace a při použití glukózy jako substrátu, a to  $3,4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  s obsahem PHB 73 % sušiny. Využito bylo genů pro syntézu PHB z bakterie *R. eutropha* [13].

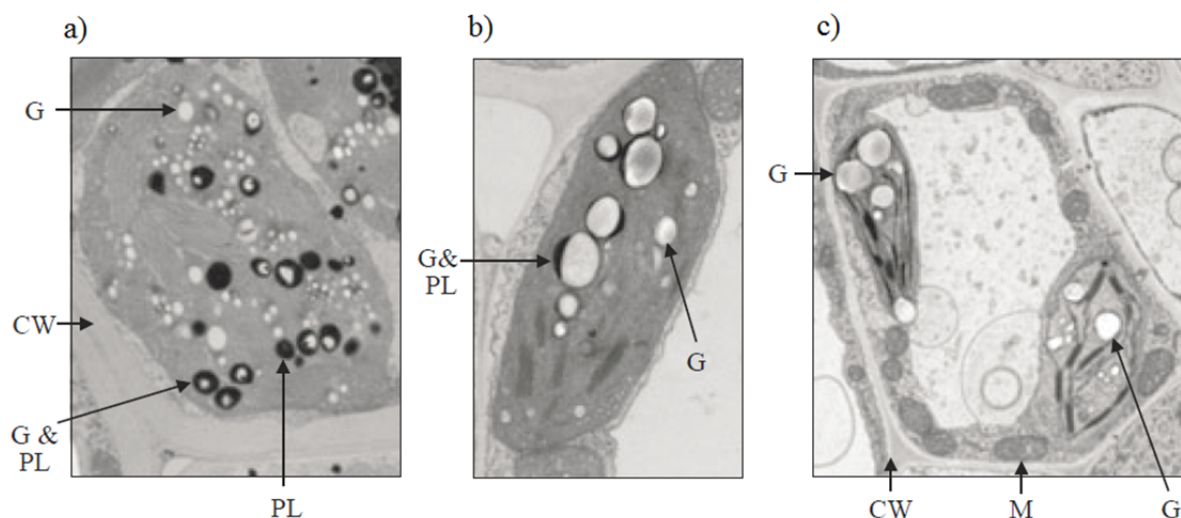
### 2.1.1.2 Produkce PHB v transgenních rostlinách

Dnes se rostliny běžně využívají k velkoobjemové produkci některých látek jako například škrobu a rostlinných olejů. Vývin genetického inženýrství umožnil vytvořit rostliny se schopností produkovat cenné komodity, které se v nich jinak nenachází, jako právě PHB. Pro syntézu polyhydroxybutyrátu v rostlinách byla vybrána buněčná cytoplasma, a to hned z několika důvodů. Nachází se v ní prekurzor pro tvorbu PHB, acetyl-CoA, u vyšších rostlin také  $\beta$ -ketothioláza, jeden ze tří enzymů potřebných pro syntézu, a navíc je možná přímá

exprese genů z bakterií. Do organismu bylo nutné exprimovat zbývající dva geny, *phbB*, kódující acetoacetyl-CoA dehydrogenázu, a *phbC*, která kóduje PHB syntetázu [4],[10].

První rostlina, u které byl aplikován tento přístup, byla *Arabidopsis thaliana* v roce 1992. Tato rostlina jinak nemá praktické využití, vybrána byla díky tomu, že její životní cyklus trvá pouze dva měsíce. Výsledkem byly inkluze PHB vyskytující se v cytoplazmě, cytosolu, vakuolách a v jádře o hmotnosti 0,1 % buněčné sušiny. Bylo ale také zjištěno, že genetická úprava měla za následek zhoršení růstu a sníženou produkci semen [4],[14].

PHB může být také produkován v transgenním lnu, lilku bramboru, tabáku, cukrové řepě, bavlníku, rýži, sóji, kukuřici, cukrové třtině, prosu a dalších rostlinách (viz obrázek 3) [15]. Co je zajímavé, v bavlníku slouží PHB jako činidlo, které modifikuje tepelné vlastnosti bavlněných vláken, nikoli k extrakci a použití v průmyslu [16].



Obr. 3 Snímky z transmisního elektronového mikroskopu listů rostlin produkujících PHB, a) plastid prosa, b) plastid tabáku, c) buňka tabáku se dvěma plastidy. G – granule PHB, CW – buněčná stěna, PL – plastoglobule, PL & G – plastoglobule s granulemi PHB, M – mitochondrie [15].

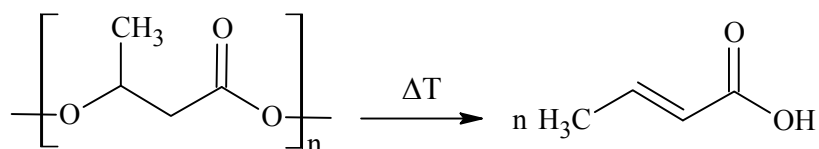
Syntéza PHA pomocí transgenních rostlin by umožnila produkci v měřítku miliónů tun, oproti tisícům při fermentaci. Navíc pokud by bylo dosaženo hmotnosti PHA v sušině 20–40 %, svou cenou by se tyto materiály mohly stát konkurencí z ropy vyráběným plastům [7].

### 2.1.2 Fyzikální vlastnosti PHB

Tento biopolymer je izotaktický a protože jsou všechny chirální uhlíky v molekule PHB konfigurace R, je také značně krystalický. Krystalizace však nastává až po extrakci z buněk, uvnitř existuje ve stavu amorfním. Vysoká krystalinita, 55–80 %, způsobuje jeho značnou tuhost a křehkost [10].

Molární hmotnost PHB syntetizovaného bakteriemi je  $10^4$ – $3 \cdot 10^6$  Da a polydisperzita okolo 2–3. Hustota krystalického PHB je 1,26 g/ml a amorfního 1,18 g/ml [10]. PHB je biodegradabilní a biokompatibilní termoplastický polymer. Má dobrou potiskovatelnost, uchovává chuť a vůni a je odolný vůči tukům a olejům, což jsou vlastnosti, pro které je velice ceněný [3].

Teplota tání PHB leží mezi 173 a 180 °C, okolo 200 °C ale dochází k jeho rozkladu na kyselinu krotonovou (obrázek 4). Blízkost těchto dvou teplot značně ztěžuje zpracovatelnost materiálu. Teplota skelného přechodu PHB leží mezi 5 a 9 °C [6].



Obr. 4 Tepelný rozklad PHB na kyselinu krotonovou [15]

Youngův modul pružnosti v tahu polyhydroxybutyrátu je 3,5 GPa, pevnost v tahu 40 MPa a délkové prodloužení okolo 3 %. To je až na poslední hodnotu velmi podobné polypropylenu [6]. PHB má oproti PP lepší odolnost vůči UV záření a nižší vůči rozpouštědlům [18]. Srovnání mechanických vlastností PHB s některými běžně vyráběnými plasty uvádí tabulka 1.

Tabulka 1 Vlastnosti PHB a vybraných plastů [10]

	Teplota tání $T_m$ [°C]	Youngův modul $E$ [GPa]	Pevnost v tahu $\sigma$ [MPa]	Délkové prodloužení $\varepsilon$ [%]	Teplota skelného přechodu $T_g$ [°C]
PHB	179	3,5	40,0	5	4
PP	170	1,7	34,5	400	45
PET	262	2,2	56,0	300	70
PS	110	3,1	50,0	–	21
LDPE	130	0,2	10,0	620	–30

PHB je rozpustný v některých halogenovaných uhlovodících, jako je chloroform, chlormethan, trichlorethylen, 2,2,2-trifluorethanol, 1,1,2,2-tetrachlorethan, 1,2-dichlorethan, dále například v dimethylformamidu, v ethylesteru octooctové kyseliny, v ledové kyselině octové a dalších rozpouštědlech. Nerozpustný je ve vodě, methanolu, ethanolu, tetrachlormethanu nebo například v ethylesteru kyseliny octové. [17].

### 2.1.2.1 Biodegradabilita

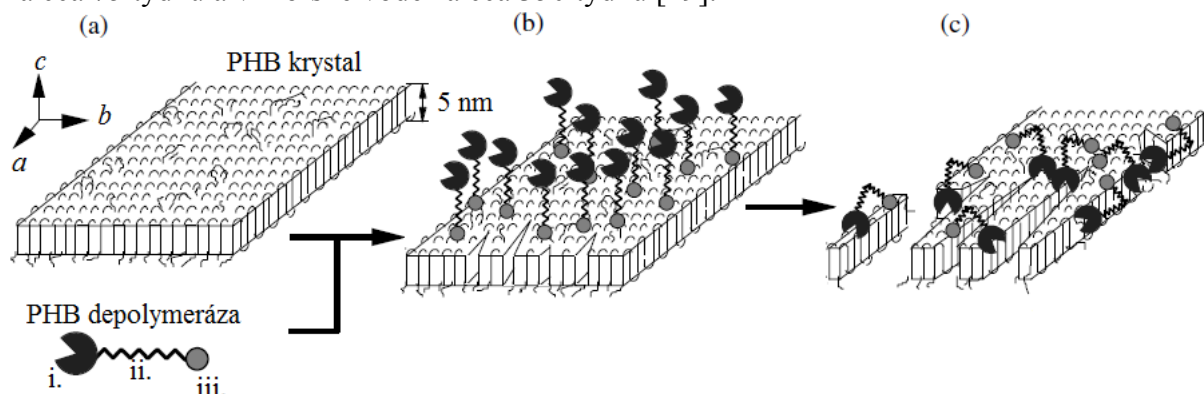
Vlastností, která PHB odlišuje od dalších běžně vyráběných plastů je právě jeho biodegradabilita. Ta podle definice znamená schopnost rozložit se na oxid uhličitý, methan, vodu, anorganické sloučeniny a biomasu, přičemž je tento proces spojen se ztrátou fyzikálních a mechanických vlastností [3]. Rychlost degradace ovlivňují za prvé parametry ekosystému, jako aktivita a diverzita mikrobiální populace, teplota, pH, množství vody a kyslíku či množství živin. Za druhé to jsou vlastnosti samotného materiálu, tedy krystalinita, stereoregularita, molární hmotnost, chemické složení monomeru a způsob, jakým byl zpracován [6].

PHB se v aerobních podmínkách rozkládá na vodu a CO<sub>2</sub> a v anaerobních, tedy bakteriemi v půdě, ve sladkých a slaných vodách a odpadních vodách na methan [1].

PHB může být rozložen uvnitř organismu pomocí intracelulární PHB depolymerázy v případě nedostatku energie, nebo pomocí extracelulární depolymerázy, kterou produkují i organismy neschopné akumulace PHB. Z důvodů odlišností PHB nacházejícího se *in vivo* ve formě amorfních granulí a PHB denaturovaného, který je částečně krystalický, není možné tyto dva enzymy zaměňovat. Intracelulární depolymeráza není schopná rozkládat krystalickou formu PHB a naopak [18]. Extracelulární depolymeráza rozkládá PHB na směs ve vodě rozpustných oligomerů, nebo směs dimerů a monomerů, nebo pouze monomerů. V následujícím kroku jsou případně oligomery hydrolyzovány dalším enzymem. Zatím bylo objeveno 9 genů kódujících PHB depolymerázu [6]. Depolymerační reakce je heterogenní a zahrnuje dvě fáze:

adsorpci enzymu na povrch PHB a samotnou hydrolýzu polymerních řetězců [1]. Schéma reakce se nachází na obrázku 5.

Fólie PHB silná 1 mm se v anaerobním prostředí odpadní vody rozloží za cca 6 týdnů, v půdě za cca 75 týdnů a v mořské vodě za cca 350 týdnů [19].

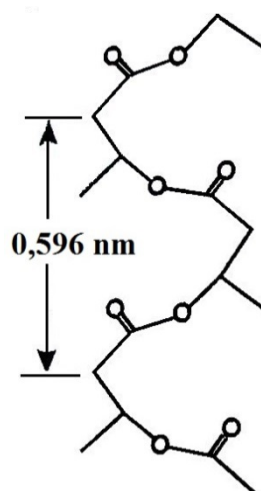


Obr. 5 Schéma depolymerace PHB, (a) struktura PHB krystalu a PHB depolymerázy – i. katalytická doména, ii. spojovací část, iii. vázací doména; (b) navázání depolymerázy na povrch krystalu; (c) hydrolýza [19].

### 2.1.2.2 Krystalinita a krystalová struktura

Jednou z největších překážek v komerčním využití PHB jako materiálu je jeho křehkost. Tato vlastnost je způsobena několika faktory. V první řadě je to vysoký stupeň krystalinity, způsobený sekundární krystalizací amorfní fáze PHB. Dále má PHB při krystalizaci extrémně nízkou hustotu nukleí, což vede ke vzniku velkých zrn (sférolitů), které mají spoustu prasklin. Navíc teplota skelného přechodu zbývající amorfní fáze je nízká, takže se polymerní řetězce přeskupují i potom, co je materiál ochlazen na pokojovou teplotu [21]. Jev křehnutí PHB při jeho skladování za běžných teplot je popisován velmi často. Amorfní řetězce v PHB hrají svou roli při přenášení napětí na krystaly, bohužel jejich obsah se ale časem zmenšuje a materiál je křehčí. Je dokázána existence dvou typů amorfní fáze v semikrystalických polymerech jako je PHB. První je rigidní amorfní fáze (RAF), jejíž rozměry se pohybují v nano dimenzi, druhá je mobilní amorfní fáze (MAF) složená z řetězců, které se uvolňují při  $T_g$ . Při počátečním podílu krystalické fáze 35 % a RAF 14 %, se po 90 minutách zvýší podíl krystalů o 15 %. Dalším skladování krystalinita po roce vzroste až na 71 % a podíl RAF na 25 %, to znamená celkový podíl tuhé fáze 96 %. V materiálu zbyde pouze nepatrné množství frakce schopné odolat mechanickému namáhání [22].

Struktura makromolekuly PHB v jeho  $\alpha$ -formě má tvar levotočivé spirály se šroubovou osou  $2_1$  a opakováním 0,596 nm (obrázek 6). Základní buňka krystalové struktury je kosočtverečná s rozměry  $a = 0,576$  nm,  $b = 1,320$  nm a  $c = 0,596$  nm a skrz ni procházejí dvě molekuly PHB. Tyto dva antiparalelní řetězce snadno tvoří skládáním tenké lamelární krystaly. Jejich rozměry jsou typicky přibližně 0,2–0,3  $\mu\text{m}$  šířky a 5–10  $\mu\text{m}$  výšky. Tloušťka krystalů závisí na molekulové hmotnosti, rozpouštědle a teplotě krystalizace a pohybuje se okolo 4–10 nm. Výšková osa krystalu odpovídá ose  $a$  krystalové mřížky [18],[23]. Díky struktuře krystalů je také tento polymer piezoelektrický [18].



Obr. 6 Spirála PHB [18]

Při krystalizaci z taveniny vytváří PHB sférolity tak, že lamelární krystaly rostou paprskovitě do průměru 50–500  $\mu\text{m}$ . Sférolity PHB často obsahují rozsáhlé trhliny, které přispívají ke křehkosti materiálu, jak již bylo zmíněno [18].

Existují metody, jak kinetiku krystalizace PHB charakterizovat. K tomu může sloužit Avramiho analýza, která se dá aplikovat jak na izotermickou, tak neizotermickou krystalizaci. Základním pilířem této teorie je Avramiho rovnice:

$$1 - X_c = \exp(-k \cdot t^n), \quad (1)$$

kde  $X_c$  je stupeň krystalinity,  $k$  je konstanta krystalizační rychlosti,  $n$  je parametr související s tvarem krystalů a  $t$  je čas. Úpravou rovnice dostáváme:

$$\ln(1 - X_c) = -k \cdot t^n, \quad (2)$$

$$\ln(\ln(1 - X_c)) = -\ln k + n \cdot \ln t. \quad (3)$$

Jednou z metod zjištění krystalinity polymeru je DSC analýza, kde se porovnává plocha píku tání ( $\Delta H_c$ ) s entalpií tání 100% krystalického polymeru ( $\Delta H_{100}$ ). Relativní krystalinita, která slouží k hodnocení průběhu krystalizace v čase  $t$  je dána [24]:

$$X_c = \frac{\int_{T_0}^T (dH_c/dT) dT}{\Delta H_c}. \quad (4)$$

### 2.1.3 Využití

Přestože tento materiál zatím nebyl uveden na trh ve velkém měřítku, už teď nachází svá uplatnění v zemědělství, v potravinářském, obalovém, chemickém, automobilovém či farmaceutickém průmyslu. Ve světě už je vyráběn několika známými firmami [25],[26],[27]. V chemickém průmyslu je možné PHB použít jako prekurzor pro syntézu dalších chemikálií. Zahřátím tohoto polymeru, nebo jej obsahující biomasy za určitých podmínek vede k rozrušení řetězce a ke tvorbě meziproductu – krotonové kyseliny. Ta může být dále použita pro přípravu dalších chemikálií, jako například propylenu dekarboxylací či butanolu hydrogenací [15].

Díky své biokompatibilitě se také často mluví o jeho použití ve farmaceutickém průmyslu, například pro aplikace s řízeným uvolňováním léčiv. Rychlost uvolňování léčivé látky v těle je pak jednoduše možné ovlivnit jeho dávkou a velikostí částic PHB. Předmětem zkoumání je

i využití ve tkáňovém inženýrství, například na implantáty, protože tělo tento materiál samo vstřebá. Snadnou úpravou se zvýší pórovitost PHB a vzniklé póry jsou osazeny buňkami tkáně, se kterou se pracuje [28]. Bylo také zjištěno, že přítomnost monomeru PHB, 3-hydroxybutanové kyseliny, a jejích derivátů snižuje v organismu počet buněk provádějících apoptózu a u myši zvyšuje koncentraci  $\text{Ca}^{2+}$  iontů v cytosolu. To by mělo napomáhat zásobování mozku, a tak zlepšovat paměť a schopnost učení. Existuje tedy možnost využití těchto látek jako léků [9].

Pro využití v obalovém průmyslu je velmi důležité, aby si PHB po dobu skladování zachovával své vlastnosti a po vyhození nastala rychlá degradace. Byly provedeny experimenty ve snaze porovnat vlastnosti obalových materiálů sloužících k úschově potravin vyrobených z PHB a PP vstřikováním [29],[30]. U PHB se vyskytovalo několik častých defektů jako poškozené hrany nebo bílá místa, je tedy nutná optimalizace výroby.

Další možností je využití PHB pro výrobu biopaliv [31]. Díky své stereoregularitě může také PHB sloužit jako chirální prekurzory pro syntézu dalších látek. Další aplikace zahrnují hnojiva, insekticidy a herbicidy, latex na povlaky papíru nebo nanokompozity [32].

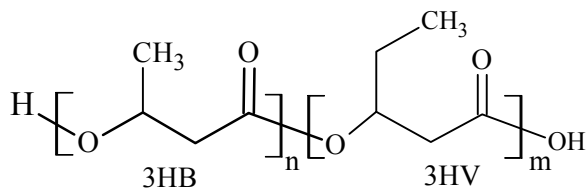
## 2.2 Modifikace vlastností PHB

Křehkost PHB a blízkost teploty tání s teplotou jeho degradace znemožňují jeho zpracování, a tak se v dnešní době vyvíjí metody, které by tyto problémy překonaly. Mezi ně patří například žihání, tažení za studena, mísení s dalšími polymery. Dále je možno použít plastifikátory, anorganická i organická nukleační činidla či vytvářet kopolymery PHB. Tepelná stabilita PHB může být dále zlepšena roubováním některých látek na řetězec PHB, jako akrylátů nebo anhydridu kyseliny maleinové.

### 2.2.1 Kopolymerizace PHB

#### 2.2.1.1 Kopolymery PHB vzniklé úpravou podmíněk fermentace

Vlastnosti PHB je možno ovlivnit už při kultivaci bakterií, a to začleněním 3- nebo 5- uhlíkatých monomerů do jeho řetězce. To vede ke snížení krystalinity a teploty tání oproti homopolymeru PHB, jako je tomu například u kopolymeru poly(3-hydroxybutyrátu-co-3-hydroxyvalerátu) (zkratka PHBV, obrázek 7). Ten je produkován při přidání kyseliny propionové nebo valerové do substrátu [10].



Obr. 7 Struktura kopolymeru PHBV

Zástupci rodu *Alcaligenes* byli krmeni alkanovými kyselinami s počtem uhlíků v řetězci od 2 do 22, při čemž bylo zjištěno, že ty se sudým počtem uhlíků způsobují produkci čistého PHB, a ty s lichým počtem uhlíků mají za následek akumulaci kopolymeru PHBV v buňkách [33].

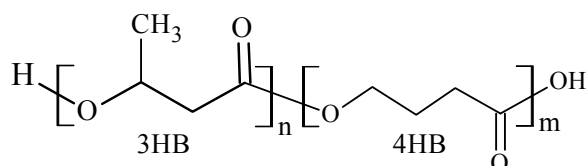
Vlastnosti PHBV jsou závislé na jeho složení (Tabulka 2). Se zvyšujícím se obsahem 3-hydroxyvalerové kyseliny v PHBV klesá teplota tání a mírně se zvyšuje teplota degradace, což umožňuje pohodlnější zpracování materiálů. Snížení teploty skelného přechodu také zabraňuje křehnutí polymeru při jeho použití při nižších teplotách. Pokles Youngova modulu značí lepší flexibilitu.

Tabulka 2 Vlastnosti PHBV s různým obsahem HV [18],[6]

$x_{HV}$ [mol%]	$T_m$ [°C]	$T_g$ [°C]	$E$ [GPa]	$\sigma$ [MPa]
0	179	10	3,5	40
3	170	8	2,9	38
9	162	6	1,9	37
14	150	4	1,5	35
20	145	-1	1,2	32
25	137	-6	0,7	30

Krystalinita kopolymerů PHBV je téměř pro všechna množství valerátu stejná, což je vysvětleno ko-krystalizací, čili že oba polymery krystalizují ve stejném lamelárním krystalu. To je možné, pouze když jsou mísitelné a jejich monomery a elementární buňky jsou si podobné [34]. Důsledkem toho je, že minimální teploty tání dosahuje kopolymer s obsahem HV 35–40 mol%, jakmile je obsah HV vyšší či nižší, teplota tání roste [18].

Další možností je vměstování monomerů 4-hydroxybutanové kyseliny (4HB) za vzniku kopolymeru poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrát) (zkratka P3HB4HB, obrázek 8).



Obr. 8 Struktura kopolymeru P3HB4HB

Ten může být produkován například pomocí bakterie *A. eutrophus* ze substrátů obsahujících 4-hydroxybutanovou kyselinu, butan-1,4-diol, butyrolakton nebo 4-chlorobutanovou kyselinu [6]. Poly(4-hydroxybutyrát) je ve velkém výtěžku možno produkovat z rekombinantní *E. coli* s použitím glukózy jako substrátu [35]. Vlastnosti P3HB4HB s rostoucím obsahem monomeru 4HB ukazuje tabulka 3.

Tabulka 3 Vlastnosti P3HB4HB s různým obsahem 4HB [6],[10]

$x_{4HB}$ [mol%]	$T_m$ [°C]	$E$ [GPa]	$\sigma$ [MPa]	$\varepsilon$ [%]
0	179	3,5	40	5
3	166	–	28	45
10	159	–	24	242
16	–	–	26	444
64	50	30	17	591
90	50	100	65	1080
100	53	149	104	1000

Jako u kopolymeru PHBV dochází ke snížení teploty tání a navíc k rapidnímu zvýšení modulu pružnosti, pevnosti v tahu a tažnosti a tím menší křehkosti. Monomery 4HB začleněné do molekuly PHB potlačují pravidelnost jeho uspořádání a snižují tak krystalinitu. Oproti homopolymeru PHB i kopolymeru PHBV je tedy tento materiál pevnější a ohebnější a v současné době vzbuzuje velký zájem výzkumu [36].

Přidáním monomerů mcl-PHA do řetězce PHB vede také k ovlivnění jeho vlastností, jako například v případě kopolymeru poly(3-hydroxybutyrátu-co-3-hydroxyhexanoátu) (zkratka PHBHHx). Se zvýšením obsahu monomerů 3-hydroxyhexanové kyseliny v PHBHHx



na 25 mol% se snížila krystalinita ze 60 na 18 %, teplota tání ze 177 na 52 °C a teplota skelného přechodu z 4 na -4 °C [37].

Mezi další způsoby jak ovlivnit vlastnosti PHB už při jeho biosyntéze je vměstnání monomerů 3-hydroxypropanové kyseliny [38], polyethylenglykolu [39], monomerů 3-hydroxypentanové kyseliny, mcl-3-hydroxyalkanových kyselin [40], nebo syntéza PHB o vysoké molekulové hmotnosti [41].

### **2.2.1.2 Kopolymery vzniklé chemickou úpravou PHB**

Kromě kopolymerizace *in vivo* je možné touto metodou upravovat i již připravený PHB. Bylo již popsáno několik úspěšných metod vytváření blokových a roubovaných kopolymerů PHB s dalšími běžnými polymery.

Blokové kopolymery, obsahující dlouhé střídající se sekvence obou monomerů, byly připraveny katalyzovanou transesterifikační reakcí. Například za použití oxidu cínitého jako katalyzátoru byly syntetizovány kopolymery s poly(izosorbidsukcinátem) (PIS), které mají oproti čistému PHB nižší krystalinitu, a s poly(mléčnou kyselinou) [42]. při použití hexamethylen diizokyanátu (HDI) jako spojovacího činidla byl připraven poly(3-hydroxybutyrát)-block-poly(ethylenglykol), který disponuje oproti PHB nižší teplotou skelného přechodu a sníženou tuhostí [43]. Dále byla popsána syntéza poly(3-hydroxybutyrátu)-block-poly(1,4-butylenadipátu) s 4-toluensulfonovou kyselinou jako katalyzátorem [44].

Kopolymery roubované jsou větvené a tvoří je makromolekula jednoho polymeru, na které jsou chemicky navázány makromolekuly druhého. Při syntézách je vždy použit radikálový mechanismus. Ve většině případů je využito metody kopolymerizace indukované zářením, která se provádí buď simultánně, kdy je upravovaný polymer ozářen v přítomnosti roubujícího monomeru, nebo metodou předozáření polymeru. Tato metoda spočívá v tom, že ozářením polymeru na něm vzniknou aktivní centra, která později reagují jako makroiniciátor s molekulami monomeru. Iniciace zářením je výhodná, protože vzniklé produkty jsou čisté a je možné je připravit i při nízké teplotě. K ozařování se používají  $\gamma$ -paprsky  $^{60}\text{Co}$ , reakce probíhá za sníženého tlaku a teploty. Simultánní ozáření bylo využito pro tvorbu blokového kopolymeru PHB a poly(izoprenu) (PIP) [45]. Předozářením PHB na něj byly naroubovány monomery styrenu, akrylové kyseliny, methyl akrylátu a *p*-styren sulfonátu sodného [46].

Popsány byly i dva způsoby přípravy poly(3-hydroxybutyrátu)-graft-poly(methylmethakrylátu). V prvním případě byla použita metoda radikálové kopolymerace makromonomerů PHB s methyl methakrylátem iniciované azobisisobutylnitrem (AIBN) [47]. Ve druhém případě šlo o radikálovou kopolymeraci s přenosem atomu, při které vystupoval chlorovaný PHB (více v kapitole 2.2.4) jako makroiniciátor [48]. Další způsob je příprava roubovaného kopolymeru PHB s poly(ethylenglykolem) (PEG) [49].

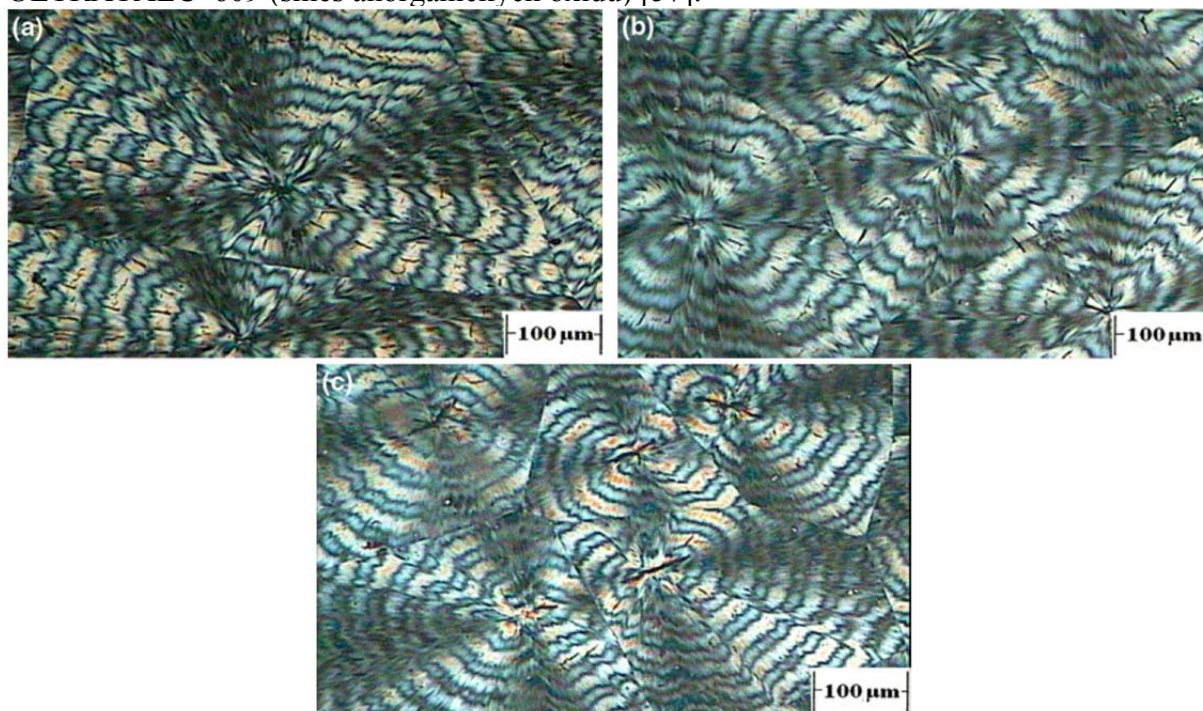
### **2.2.2 Přídavek aditiv**

Druhým způsobem modifikace, o kterém bych se chtěla zmínit, je přídavek plastifikátorů, nukleačních činidel a maziv do PHB. Plastifikátory se mísí s polymerem a vytvářejí v něm volný objem, díky čemuž je polymer měkčí a lépe se zpracovává. Účinnost plastifikátoru je dána jeho mísitelností s polymerem, chemickou strukturou, molekulární hmotností a koncentrací [50]. Nukleační činidla jsou krystalické látky, které jsou rozptýlené v tavenině polymeru, kde zůstávají pevné. Při chladnutí taveniny působí částice jako krystalizační zárodek a proto se kolem ní formuje krystal. Způsob nukleace ovlivňuje kinetiku krystalizace



a ve svém důsledku i mechanické vlastnosti daného polymeru. Maziva (lubrikanty) snižují tepelnou degradaci polymeru při jeho tepelném zpracování [51]. Strukturu čistého a nukleovaného PHB zobrazuje obrázek 9.

Velká schopnost zlepšit mechanické vlastnosti a teplotní chování PHB byla zjištěna při přidání polyvinylpyrrolidonu [52], tributyl-(O-acetylitrátu) [53], laprolu 503 (oligo(propylenglykol)), laprolu 5003 (oligomer s větší molekulovou hmotností než laprol 503), dioktyl sebakátu, dibutyl sebakátu [54] a vinného extraktu z pokrutin [55] do PHB. Jako nukleační činidlo se osvědčil nitrid boritý, který účinně snižuje teplotu skelného přechodu a ovlivňuje krystalizační mechanismus už v množství 0,2 hm% [21], dále sacharin [56], nebo ULTRATALC® 609 (směs anorganických oxidů) [57].



Obr. 9 Snímky z polarizačního optického mikroskopu pro (a) čisté PHB, (b) PHB s přidavkem 1 hm% karboxylem zakončeného butadien akronitrilového kaučuku a (c) PHB s přidavkem 1 hm% polyvinylpyrrolidinu po izotermické krystalizaci při 105 °C [49].

### 2.2.3 Mísení PHB s dalšími polymery

Ovlivnit vlastnosti polyhydroxybutyrátu je také možné jeho smísením s dalším polymerem. Aby byly dva polymery vzájemně mísitelné, musí být Gibbsova volná energie mísení záporná a směs homogenní i v mikroskopickém měřítku. Jednoduchý způsob, jak zjistit mísitelnost dvou polymerů, je změřit, zda směs vykazuje jednu teplotu skelného přechodu, nebo více – pro každou složku zvlášť. Existují ale případy, kdy se tato metoda použít nedá [58].

PHB je mísitelný s poly(ethylenoxidem) (PEO) [59], poly(vinylacetátem) (PVAc), poly(vinylacetátem-co-vinylalkoholem) [60], poly(vinylidenefluoridem) [61], poly(epichlorohydrinem) [59], poly[(D,L)-mléčnou kyselinou] [62], PHB o vysoké molekulové hmotnosti (HMWPHB) [63], PEG [64], škrobem, butyro-acetátem celulózy (CAB) či s acetopropionátem celulózy (CAP) [65]. Částečně je mísitelný s ethylenpropyle-novým kaučukem [66], poly(vinylalkoholem) (PVAI) [67], poly(L-mléčnou kyselinou) [65], chemicky syntetizovaným PHB [68], poly(methyl-methakrylátem) (PMMA), poly(cyklohexyl methakrylátem) [69], poly(vinylfenolem), poly(butylene sukcinátem) (PBS) a s PHBV,

u kterého je rozhodující obsah monomerů 3-hydroxyvalerové kyseliny [65]. Nemísitelný je naopak s poly( $\epsilon$ -kaprolaktonem) (PCL) [65], poly(methylen-oxidem) (PMO) [70], poly(propio-laktonem) (PPL) [71], poly(ethylenem) (PE) [67] nebo s poly(ethylenadipátem) (PEA) [71].

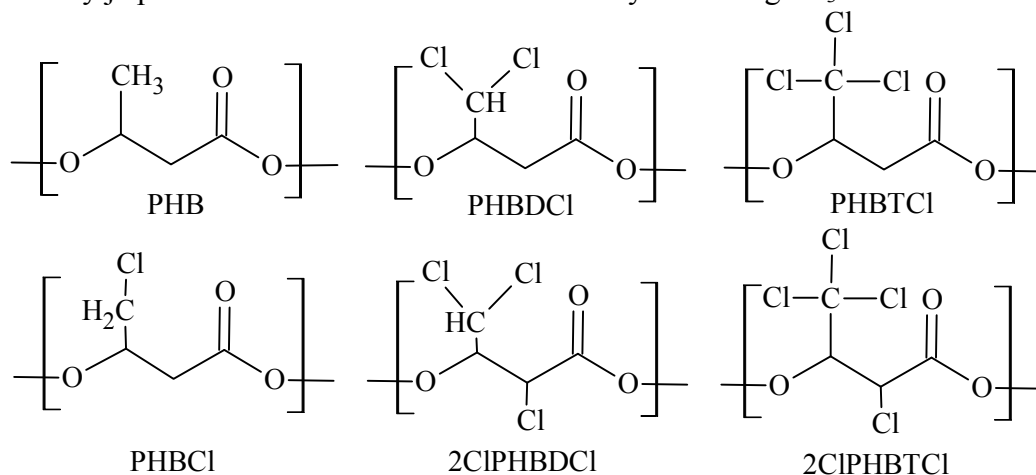
Ze zmíněných směsí, zcela biodegradabilní jsou směsi s PEO, PVAI, PEG, poly(L-mléčnou kyselinou), poly[(D,L)-mléčnou kyselinou], škrobem, deriváty celulózy, PCL, HMWPHB a PHBV.

#### 2.2.4 Modifikace roubováním funkčních skupin – chlorace

PHB má velmi nereaktivní povahu, a tak jsou možnosti jeho chemické úpravy značně omezené. Experimentálně provedená a popsána je chlorace PHB (vznik PHB-Cl).

Z celé skupiny mikrobiálních polyesterů byla provedena chlorace PHB, PHO [72] a dalších poly(3-hydroxyalkanoátů) s nenasycenými postranními řetězci [73]. Reakce s PHB byla provedena tak, že roztokem polymeru rozpuštěného ve směsi chloroformu a tetrachlormethanu ( $\text{CHCl}_3/\text{CCl}_4$  80/20 obj%), umístěného na ledové lázni a na slunečním světle, byl probubláván vysušený chlor. Ten byl připraven reakcí  $\text{KMnO}_4$  s nadbytkem  $\text{HCl}$ . Přednostně probíhá chlorace na uhlíku nenasyceného vedlejšího řetězce za vzniku monosubstituovaných merů PHB-Cl v makromolekule (obrázek 10). Produktem je bílá látka s menší krystalinitou než samotný PHB, díky čemuž je lépe rozpustná v  $\text{CHCl}_3$  a  $\text{CCl}_4$ . Při delším zavádění chloru mohou vznikat i multichlorované jednotky PHBDCI a PHBTCl a při vysokém obsahu chloru (nad 26,9 mol%) se objevují i  $\alpha$ -substituované mery 2CIPHBDCl a 2CIPHBTCl (obrázek 10). Produkt s takto vysokým obsahem chloru tvoří semielastomerní film, který je na rozdíl od PHB a PHB s nízkým obsahem chloru rozpustný v methanolu [72].

Obsah chloru byl stanoven Volhardovou metodou. Veškerý chlor je nejprve převeden na NaCl rozpuštěním chlorovaného polymeru v téměř nasyceném roztoku NaOH. Vzniklý chlorid sodný je pak stanoven titrací na standardizovaný roztok  $\text{AgNO}_3$ .



Obr. 10 Mery obsažené v produktech chlorace PHB

Chlorace PHB neovlivnila teplotu rozkladu polymeru, která byla stanovena 270 °C. Naopak teplota skelného přechodu a teplota tání byly sníženy, a to až na -20 °C v případě teploty skelného přechodu pro vzorek obsahující 37,1 mol% chloru a 134 °C v případě teploty tání pro vzorek o obsahu chloru 22 mol%.

Vzniklý PHB-Cl byl použit pro další chemické úpravy: přípravu amoniové soli reakcí s trimethylaminem či triethanolaminem, syntézu sulfonovaných PHA a Friedel-Craftsovu acylaci s použitím  $\text{AlCl}_3$  a benzenu, která vede k částečnému zesíťování PHB [72].

### 2.2.5 Roubování maleinanhydridu

Jako jednou z budoucnosti nejvíce využitelných metod úprav PHB se jeví chemické roubování maleinanhydridu (MA) na jeho skelet. Tvorba maleinovaného poly(3-hydroxybutyrátu) probíhá radikálovým mechanismem s iniciací dibenzoylperoxidem. Obsah maleinanhydridu v kopolymeru se stanovuje zpětnou titrací KOH, který je přidáván v přebytku pro zreagování veškerého maleinanhydridu. S vyšším obsahem MA v kopolymeru klesá jeho molekulová hmotnost, krystalinita v porovnání s čistým PHB, teplota krystalizace a snižuje se i rychlost růstu sférolitů a tepelného rozkladu PHB. Teplota skelného přechodu je stejná jako u PHB [74].

## 2.3 Charakterizace vlastností PHB

### 2.3.1 Termická analýza

#### 2.3.1.1 Termogravimetrická analýza (TGA)

Termogravimetrická analýza, neboli jednoduše termogravimetrie, je metoda zjišťující změny hmotnosti vzorku, který je vystaven působení teploty v dané atmosféře a v závislosti na teplotě nebo čase. Zjišťuje se tak tepelná či tepelně-oxidační stabilita vzorku a díky charakteristickému způsobu rozkladu některých látek lze v některých případech metodu využít i k určení složení vzorku. Maximální použitelné teploty jsou 1 000–1 600 °C. Jako atmosféru volíme buď prostředí inertní, například dusík nebo argon, nebo oxidativní, nejjednodušeji vzduch.

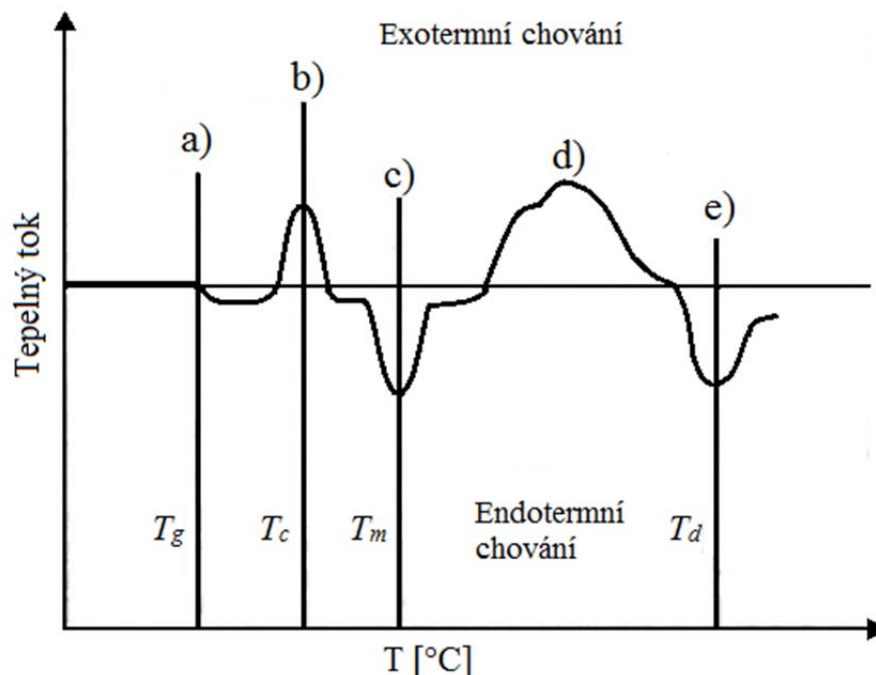
Přístroje pro TGA se skládají z elektrické pece, analytických vah, nosičů vzorků, které jsou nejčastěji vyráběny z platiny, zařízení pro měření a řízení teploty a registračního zařízení – počítače. Vlastní analýza probíhá na termováhách které jsou vůči peci umístěny horizontálně nebo vertikálně.

Jedním z nejdůležitějších parametrů termické analýzy je teplotní program, ve kterém můžeme navolit: teplotní rozsah analýz, rychlost teplotního nárůstu, teplotní prodlevy, možnosti chlazení a další [75].

#### 2.3.1.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC)

Princip metody spočívá ve zkoumání tepelných vlastností vzorku vystaveného teplotnímu programu. Současně je definovanou rychlostí ohříván zkoumaný i kontrolní – referenční vzorek. Dva základní typy DSC analyzátorů jsou DSC s kompenzací příkonu a DSC s tepelným tokem. Podstatou prvního z nich je zachování nulového teplotního rozdílu mezi měřeným a srovnávacím vzorkem. Každý vzorek má svou měřicí celu a tepelný zdroj, oba jsou zahřívány stejnou rychlostí. Pokud probíhá ve zkoumaném vzorku endotermní děj, je teplotní rozdíl kompenzován dodáním energie do tohoto vzorku, a pokud ve zkoumaném vzorku probíhá naopak děj exotermní, pro udržení stejné teploty je dodána energie do referenčního vzorku. Stejná teplota je tedy udržována díky kompenzaci příkonu, který je měřenou veličinou. Tento typ je vhodný pro sledování izotermních dějů. U druhého zmiňovaného typu DSC analyzátoru, s tepelným tokem, je měření rozdílu příkonu nahrazeno měřením rozdílu teplot obou vzorků, které jsou umístěny ve společné cele na dvou terčích, přičemž rozdíl teplot je zaznamenán jako tepelný tok, který je rozdílu teplot úměrný.

Takto může být změřena jakákoliv fázová přeměna materiálu, která souvisí se změnou jeho teploty, například teplota tání, teplota skelného přechodu, různé druhy krystalizací, tepelná kapacita a teplota degradace, viz obrázek 11. Hmotnost vzorků je v řádu mikrogramů [76].

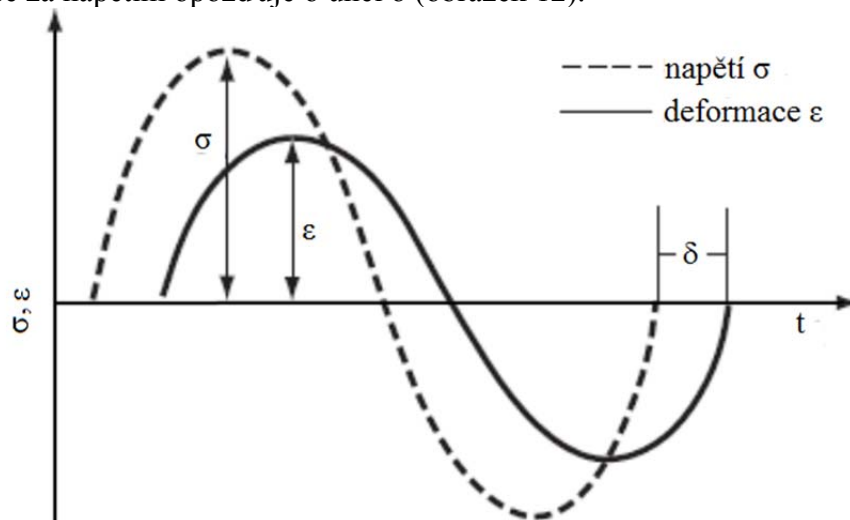


Obr. 11 DSC křivka, a) skelný přechod, b) krystalizace, c) tání, d) vytvrzení, oxidace, síťování, či jiná chemická reakce, e) degradace, vypaření. [76]

### 2.3.1.3 Dynamická mechanická analýza (DMA)

Při analýze pomocí DMA, je vzorek vystaven jak teplotnímu, tak mechanickému namáhání, které je nejčastěji ve formě periodických deformací o volitelné frekvenci a amplitudě. U polymeru se takto vlastně zjišťují jeho viskoelastické vlastnosti.

Pokud je materiál namáhán vnějším napětím  $\sigma$  popsaným periodickou funkcí s danou periodou, toto střídavé harmonické napětí by mělo vyvolat odezvu, deformaci  $\varepsilon$ , která je také harmonická. Pro ideálně elastické těleso dochází k deformaci okamžitě. V případě viskoelastické látky se část mechanické energie dodané při jednotlivých cyklech ztrácí a deformace se za napětím opožďuje o úhel  $\delta$  (obrázek 12).



Obr. 12 Funkce napětí a deformace [77]

Pro konkrétní popis dynamických vlastností se obvykle používá komplexní dynamický modulu pružnosti  $G$ , který má reálnou a imaginární složku. Reálná složka komplexního modulu  $G'$  se nazývá soufázový (často také elastický) dynamický modulu pružnosti, který představuje míru ideálně elastického odporu materiálu proti pružnému dynamickému napětí za daných podmínek. Určuje hodnotu energie akumulované a uvolněné v jednotce objemu. Imaginární složka komplexního modulu  $G''$  je označována jako ztrátový dynamický modul. Ztrátový modul vyjadřuje míru přenosu energie mezi molekulami, charakterizuje mechanické ztráty a určuje množství energie, které se přemění v teplo. Poměr  $G'/G''$  je dán  $\tan(\delta)$ , který je označován jako ztrátový činitel [77].

## 2.3.2 Mechanická analýza

### 2.3.2.1 Tahová zkouška

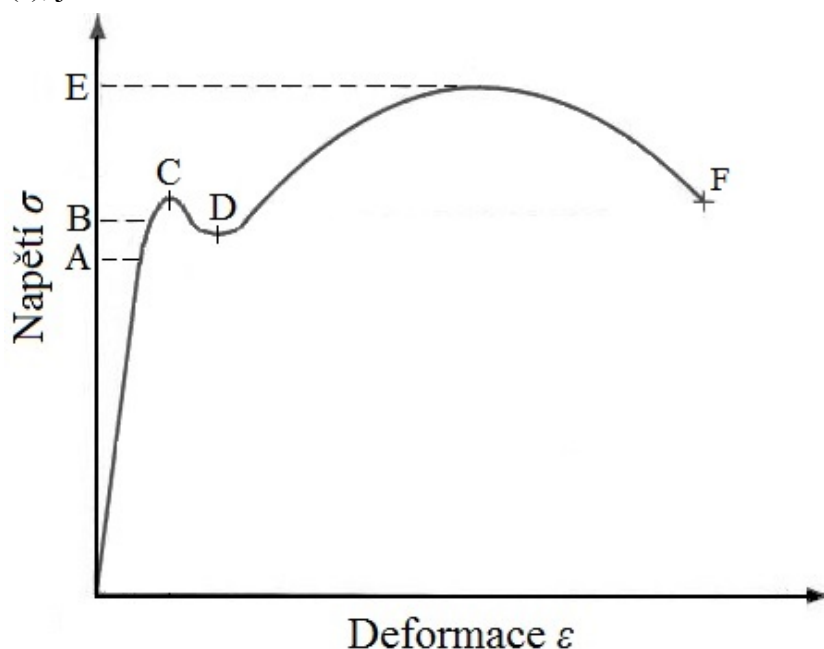
Tahová zkouška patří mezi statické krátkodobé zkoušky. Při tahové zkoušce je vzorek podroben tahové deformaci, jejíž rychlost je konstantní. Sleduje se závislost tahového napětí  $\sigma$  na relativní deformaci  $\varepsilon$ . Napětí je dáno poměrem:

$$\sigma = \frac{F}{S_0}, \quad (5)$$

kde  $F$  je síla působící na vzorek a  $S_0$  je plocha průřezu nedeformovaného vzorku. Relativní deformace je daná:

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l_0} = \frac{l - l_0}{l_0}, \quad (6)$$

kde  $\Delta l$  je prodloužení vzorku a  $l_0$  je délka vzorku před deformací. Tahová křivka, tedy závislost  $\sigma = f(\varepsilon)$ , je zobrazena na obrázku 13.



Obr. 13 Tahová křivka [78]

Počáteční část křivky až po bod A je lineární a napětí je přímo úměrné deformaci, což je matematicky vyjádřeno Hookovým zákonem:

$$\sigma = E \cdot \varepsilon, \quad (7)$$

kde konstanta  $E$  je modul pružnosti v tahu, nebo-li Youngův modul pružnosti. Napětí odpovídající bodu A se označuje jako mez úměrnosti a označuje konec hookovského chování materiálu. Po jejím dosažení až po napětí v bodě B vzrůstá deformace tělesa rychleji než příslušné napětí. Přestane-li v tomto okamžiku napětí působit, deformace okamžitě zcela nevytizí, je takzvaně viskoelastická. Napětí  $\sigma_B$  se nazývá mez pružnosti. Po překročení této meze nastává plastická deformace, která je nevratná. Napětí odpovídající bodu C se nazývá horní mez kluzu a napětí v bodě D dolní mez kluzu.

Další charakteristiky, které vyhodnocujeme z tahové zkoušky, jsou pevnost v tahu a tažnost materiálu. Pevnost v tahu odpovídá maximálnímu smluvnímu napětí dosaženému na tahové křivce, tedy  $\sigma_C$ . Tažnost odpovídá maximální dosažené relativní deformaci  $\varepsilon_D$ .

Aby mohl být vyhodnocen Youngův modul, měření musí proběhnout s přesným extenzometrem [78].

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Použité materiály

Pro práci byly použity dva materiály, Biomer a PHB14. Materiál s označením Biomer byl zakoupen od německé firmy Biomer, jedná se o kopolymer PHBV se složením 98 mol% PHB a 2 mol% PHV. PHB14 byl zakoupen od firmy Nafigate. Pro oba materiály byly metodou gelové permeační chromatografie proměřeny číselné a hmotnostní středy molekulových hmotností,  $M_n$  a  $M_w$ , a byl zjištěn stupeň polydisperzity, který je dán podílem  $M_w/M_n$ . Výsledky jsou uvedeny v tabulce 4.

Nitrid boritý použitý jako nukleační činidlo byl zakoupený od firmy Sigma Aldrich. PBS s označením Econorm 1201 od výrobce Shandong Fuwin New Material Co., Ltd. Je určený pro výrobu fólií, vstřikovaných a termoformovaných výrobků. Stabilizátor s označením Irganox® B225 byl zakoupen od společnosti BASF, jedná se o směs Irgafosu® 168 a Irganoxu® 1010 určenou k tepelné stabilizaci polyolefinů při zpracování.

Tabulka 5 obsahuje přehled měřených vzorků.

Tabulka 4 Charakteristika použitých materiálů

	$M_n$ [kg/mol]	$M_w$ [kg/mol]	Stupeň polydisperzity [-]
<b>PHB1</b>	213	479	2.3
<b>PHB14</b>	335	721	2.2

Tabulka 5 Měřené vzorky

	materiál	stabilizace	tepelná úprava	chemická úprava	nukleace	plastifikace	označení
<b>1</b>	Biomer	-	-	-	-	-	PHB1
<b>2</b>	Biomer	0,4 % B225	-	fluorace	-	-	PHB1_F
<b>3</b>	Biomer	0,4 % B225	lisování	fluorace	-	-	PHB1_F_1
<b>4</b>	Biomer	0,4 % B225	lisování	fluorace	0,5 % BN	-	PHB1_F_2
<b>5</b>	Biomer	0,4 % B225	lisování	fluorace	-	10 % PBS	PHB1_F_3
<b>6</b>	Biomer	0,4 % B225	lisování	fluorace	0,5 % BN	10 % PBS	PHB1_F_4
<b>7</b>	PHB14	-	-	-	-	-	PHB14
<b>8</b>	PHB14	-	sušení	chlorace	-	-	PHB14_Cl
<b>9</b>	PHB14	-	-	chlorace	-	-	PHB14_Cl_0
<b>10</b>	Biomer	-	-	-	-	-	PHB1_0

Vzorky 1 a 10 s označením PHB1 a PHB1\_0 od se liší skladováním. PHB1 byl uchováván v uzavřené PE láhvi, zatímco PHB1\_0 ve skleněné ampuli v malém množství (cca 1 g)

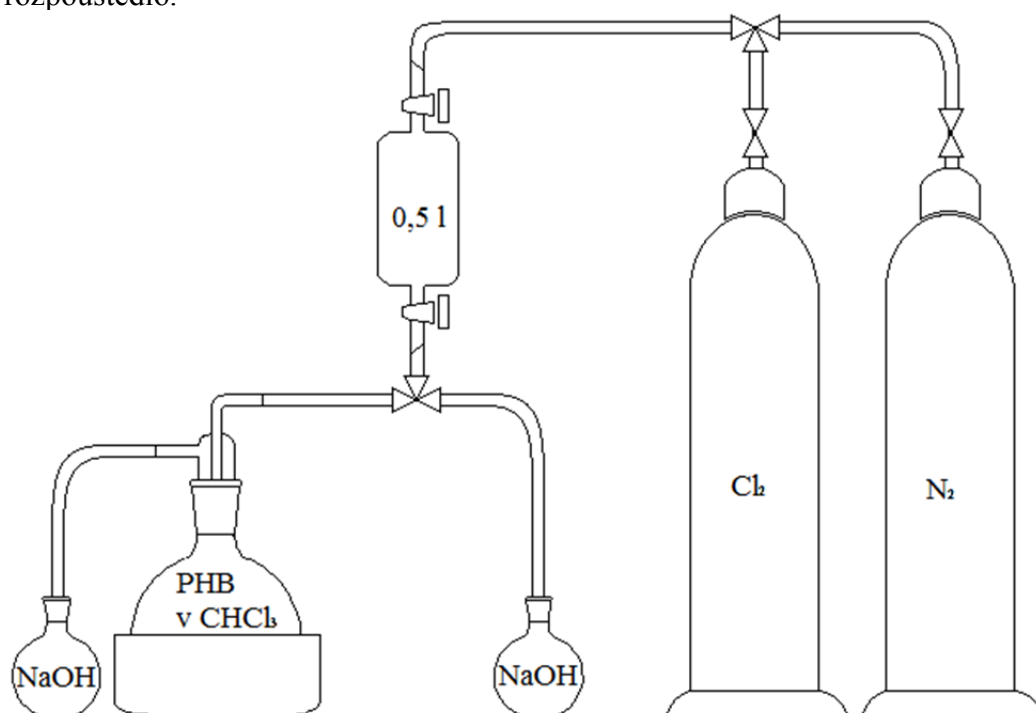
#### 3.2 Chemické roubování materiálů

##### 3.2.1 Chlorace PHB14

Chlorace materiálu PHB14 byla provedena následujícím postupem: PHB byl v reakční baňce za zvýšené teploty rozpuštěn v nadbytku chloroformu (1:19) a umístěn do ledové lázně. Na PHB v lázni bylo svíceno halogenovou lampou. Roztokem polymeru byl probubláván chlor z tlakové láhve. Schéma aparatury je na obrázku 14. Po skončení reakce byl rozpuštěný

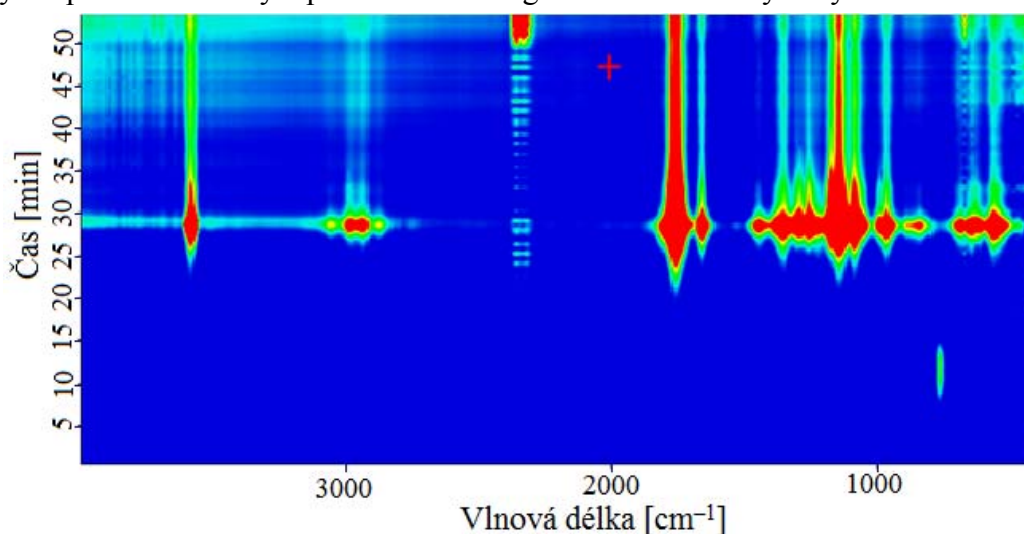


materiál umístěn do nádoby v digestoři, ve které byl ponechán týden, aby se vypařilo veškeré rozpouštědlo.



Obr. 14 Schéma aparatury chlorace PHB

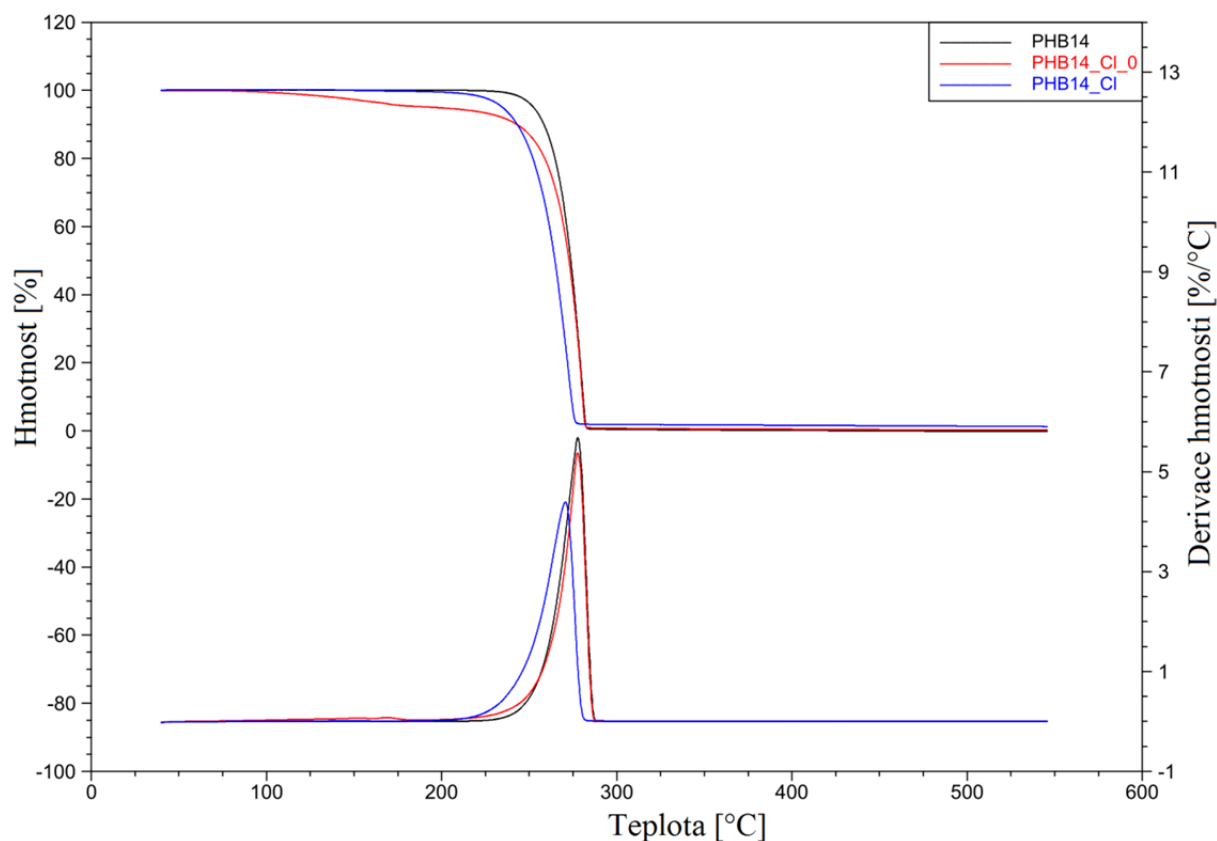
Takto připravený materiál byl podroben termogravimetrické analýze pro zjištění jeho tepelné odolnosti. Z výsledku analýzy bylo viditelné, že počátek rozkladu materiálu se nachází již okolo 80 °C, a při 200 °C je rozloženo již téměř 10 %. Za účelem zjištění produktů rozkladu tohoto materiálu byla provedena diferenční termická analýza s FTIR analyzátozem plyných produktů, výsledné spektrum je na obrázku 15. Porovnáním naměřených spekter PHB a PHB14\_Cl bylo zjištěno, že v čase kolem 7 minut, tedy při teplotě 80 °C, dochází u PHB14\_Cl k rozkladu, jehož produkt byl porovnáním s knihovnou spekter určen jako chloroform. Pro odstranění zbytkového rozpouštědla byl materiál na 24 h umístěn do vakuové sušárny s teplotou 80°C. Byla provedena termogravimetrické analýza vysušeného materiálu.



Obr. 15 Spektrum DTA-FTIR analýzy



Na obrázku 16 je vidět porovnání termogravimetrických křivek referenčního vzorku, PHB14, chlorovaného materiálu před vysušením a vysušeného PHB14\_Cl. Jak je vidět, vysušený chlorovaný PHB14 oproti nevysušenému disponuje počátkem rozkladu až při cca 220 °C, avšak teplota maximálního rozkladu je pro nevysušený materiál 277,6 °C a pro vysušený 270,6 °C. Tento pokles o 7 °C lze pravděpodobně vysvětlit částečnou degradací materiálu při sušení. Důkazem by bylo srovnání molekulových hmotností pomocí gelové permeační chromatografie, z časových důvodů však nebyla analýza provedena.



Obr. 16 Porovnání TGA křivek PHB14 a PHB14\_Cl před a po vysušení

### 3.2.1.1 Stanovení obsahu chloru

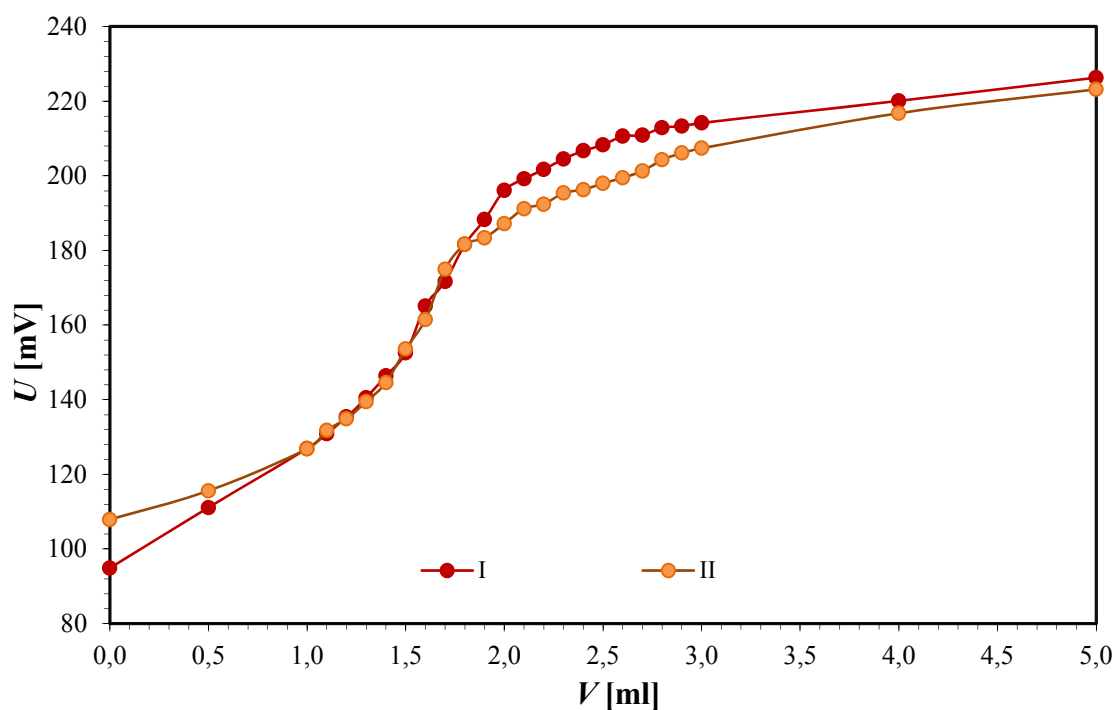
Množství chloru naroubovaného na vysušeném polymeru bylo zjišťováno titrací dle Volharda (viz kapitola 2.2.4) s potenciometrickou indikací pomocí přístroje InoLab level 1. Přístrojové uspořádání ukazuje obrázek 17. Titrační křivka, závislost elektromotorického napětí mezi elektrodami na objemu přidaného činidla, byla vynesena do grafu, který je na obrázku 18. Bod ekvivalence je doprovázen největší potenciálovou změnou a vyhodnocuje se Granovou metodou. Množství chloru ve vzorku  $m_{Cl}$  se vypočítá:

$$m_{Cl} = M_{Cl} \cdot V_{AgNO_3} \cdot c_{AgNO_3} \cdot F, \quad (8)$$

kde  $M_{Cl}$  je molární hmotnost chloru v g/mol,  $V_{AgNO_3}$  je množství přidaného činidla v l,  $c_{AgNO_3}$  je přesná koncentrace činidla v mol/l a  $F$  je faktor zředění. Takto byl obsah chloru v materiálu stanoven na 1,4 hm%.



Obr. 17 Aparatura pro stanovení chloru s potenciometrickou titrací



Obr. 18 Titrační křivka stanovení Cl

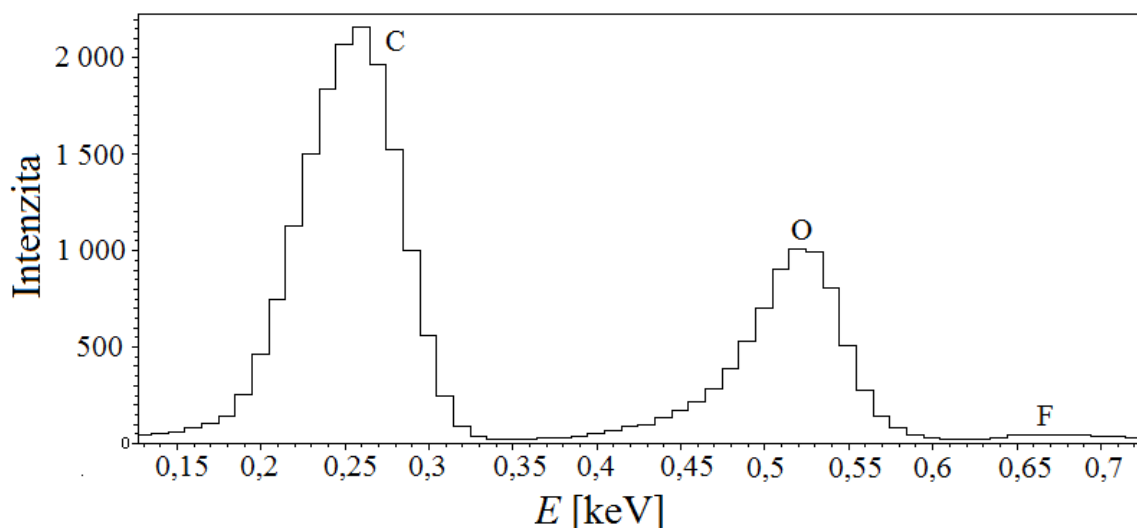
### 3.2.2 Fluorace PHB

Fluorace PHB1 byla provedena německou firmou [Fluor Technik System GmbH](#), která byla založena v roce 1992. Firma se zabývá fluorací povrchů především za účelem zlepšení adheze barev, laků a dalších povlaků.

Reakce proběhla v heterogenním reaktoru určeném pro fluoraci povrchů. Použita byla směs  $F_2/N_2$  v poměru 1:9 a reakční doba se pohybuje okolo 10 minut.

### 3.2.2.1 Stanovení obsahu fluoru

Stanovení obsahu fluoru bylo provedeno detektorem pro energiově-disperzní analýzu rentgenového záření (EDX), který je příslušenstvím rastrovacího elektronového mikroskopu (SEM). Kalibrace koncentrací prvků C a O byla provedena na čistém PHB a v případě fluoru na polytetrafluorethylenu. Množství fluoru bylo touto metodou stanoveno  $0,4 \pm 0,1$  hm%, spektrum ukazuje obrázek 19.



Obr. 19 SEM-EDX stanovení fluoru

## 3.3 Příprava vzorků pro DMA a tahovou zkoušku

Vzorky 3–6 s označením PHB1\_F\_1–PHB1\_F\_4 byly připraveny hnětením směsi PHB1\_F s příslušnými aditivami v laboratorním hnětači Brabender s obsahem  $25 \text{ cm}^3$  při nastavení otáček šneku 45 ot/min a teplotě  $180^\circ\text{C}$ . Hmotnost vzorku byla 25 g a doba hnětení 3 min. Dále byly vzorky vylisovány do tvaru folie silné cca 1,2 mm pomocí dolnotlakého vyhřívaného lisu Fontijne s uzavírací silou 300 kN. Teplota lisování byla zvolena  $180^\circ\text{C}$ , doba ohřevu 5 min, doba lisování 1 min a chlazení 1,5 min. Zkušební tělesa pro analýzy byla vyražena z fólie na vysekávacím zařízení.

## 3.4 Termická analýza

### 3.4.1 Termogravimetrická analýza

Termogravimetrickou analýzou sledujeme u polyhydroxybutyrátu hlavně jeho teplotní stabilitu, tedy teplotu odpovídající počátku rozkladu a teplotu maximální rychlosti rozkladu z derivační křivky. U porovnávaných vzorků je velmi důležité, aby měření proběhlo ve stejném teplotním režimu. Standardní rychlost ohřevu je  $10^\circ\text{C/min}$ , pro orientační měření se používá rychlost  $20^\circ\text{C/min}$  a pro precizní měření  $5^\circ\text{C/min}$ . Použitý teplotní program byl následovný:

1. Temperace na teplotu  $40^\circ\text{C}$  a výdrž 3 min,
2. Ohřev na teplotu  $550^\circ\text{C}$  rychlostí  $20^\circ\text{C/min}$ , případně  $5^\circ\text{C/min}$  pro vzorky řady PHB1 a rychlostí  $10^\circ\text{C/min}$  pro vzorky řady PHB14.

Veškerá měření byla provedena v inertní dusíkové atmosféře. Hmotnost vzorků se pohybovala od 10 do 15 mg. Pro analýzu sypkých vzorků byla použita vhodnější korundová pánvička, pro ostatní vzorky platinová. Z TG křivek byly stanoveny dvě základní teploty:

1.  $T_1$  – počáteční teplota poklesu hmotnosti (onset temperature),
2.  $T_2$  – teplota nejrychlejšího úbytku hmotnosti (midpoint temperature).

### 3.4.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie

U semikrystalických polymerů, jako je právě PHB, sledujeme pomocí DSC teplotu krystalizace a teplotu tání, které charakterizují krystalickou fázi a dále teplotu skelného přechodu, která charakterizuje amorfní fázi polymeru. Z důvodů závad na DSC přístrojích Perkin Elmer a Netzch, které jsou vybavené chladicí jednotkou, byl k měření byl použit přístroj DSC 2920 od firmy TA Instruments, který vybaven chladicí jednotkou není. Teplota měření proto nemohla klesnout pod 40 °C, a tak nebylo možné u vzorků zjistit teplotu skelného přechodu, která se u PHB nachází kolem 4 °C.

Stejně jako u TGA je důležité, aby byl u srovnávaných vzorků použit stejný teplotní program měření. Pro všechna měření byly použity hliníkové pánvičky s víčky Perkin Elmer, prázdná uzavřená pánvička byla použita jako reference. Hmotnost vzorků se pohybovala v rozmezí 5–10 mg a zvolena byla dusíková atmosféra.

Materiály byly podrobeny dvěma cyklům ohřevu a chlazení s nastavením teplotního programu (DSC200):

1. Temperace na teplotu 50 °C a výdrž 3 min,
2. Ohřev rychlostí 10 °C/min na teplotu 200 °C a zde výdrž 3 min,
3. Ochlazení rychlostí 10 °C/min na 50 °C a výdrž 3 min,
4. Ohřev rychlostí 10 °C/min na teplotu 200 °C a zde výdrž 3 min,
5. Ochlazení rychlostí 10 °C/min na 50 °C.

Takto byly proměřeny vzorky: PHB1, PHB1\_F, PHB14 a PHB14\_Cl. Srovnávány jsou vždy dvojice referenční materiál – chemicky upravený materiál, v případě vlivu fluorace se jedná o vzorky PHB1 – PHB1\_F a v případě vlivu chlorace o PHB14 – PHB14\_Cl. Vyhodnoceny byly následující charakteristické teploty:

1.  $T_m$  – teplota tání (melting temperature),
2.  $T_c$  – teplota krystalizace (crystallization temperature).

#### 3.4.2.1 Izotermická krystalizace

Nastavením vhodného teplotního programu je také možné vytvořit podmínky pro izotermickou krystalizaci, a tak vyhodnotit kinetiku krystalizace polymeru (viz kapitola 2.1.2.2). V prvním kroku je nutné odstranit teplotní historii vzorku, v druhém kroku následuje ochlazení na teplotu krystalizace, která je určena podle počátku krystalizace za neizotermních podmínek. Při této teplotě je setrváno, dokud krystalizace zcela neproběhne. První měření proběhlo pro vzorek PHB1\_F\_0 s nastavením následujících teplotních podmínek (ISO1):

1. Temperace na teplotu 40 °C a výdrž 3 min,
2. Ohřev rychlostí 10 °C/min na teplotu 190 °C a zde výdrž 3 min,
3. Ochlazení rychlostí 200 °C/min na 110 °C a výdrž 120 min.

Jak je vidět ze závislosti teploty na čase pro toto měření, která je na obrázku 20, přístroj nebyl schopen udržet stálou rychlost chlazení kvůli absenci chladicí jednotky. Navíc, exotermní pík nesoucí v sobě signál odpovídající krystalizaci materiálu, odpovídal času, kdy ještě nebylo

ukončeno chlazením, takže se nejednalo o krystalizaci izotermní. Z důvodu nelinearity rychlosti chlazení byla v druhém měření tato rychlost snížena. Upravena byla i teplota krystalizace (ISO2):

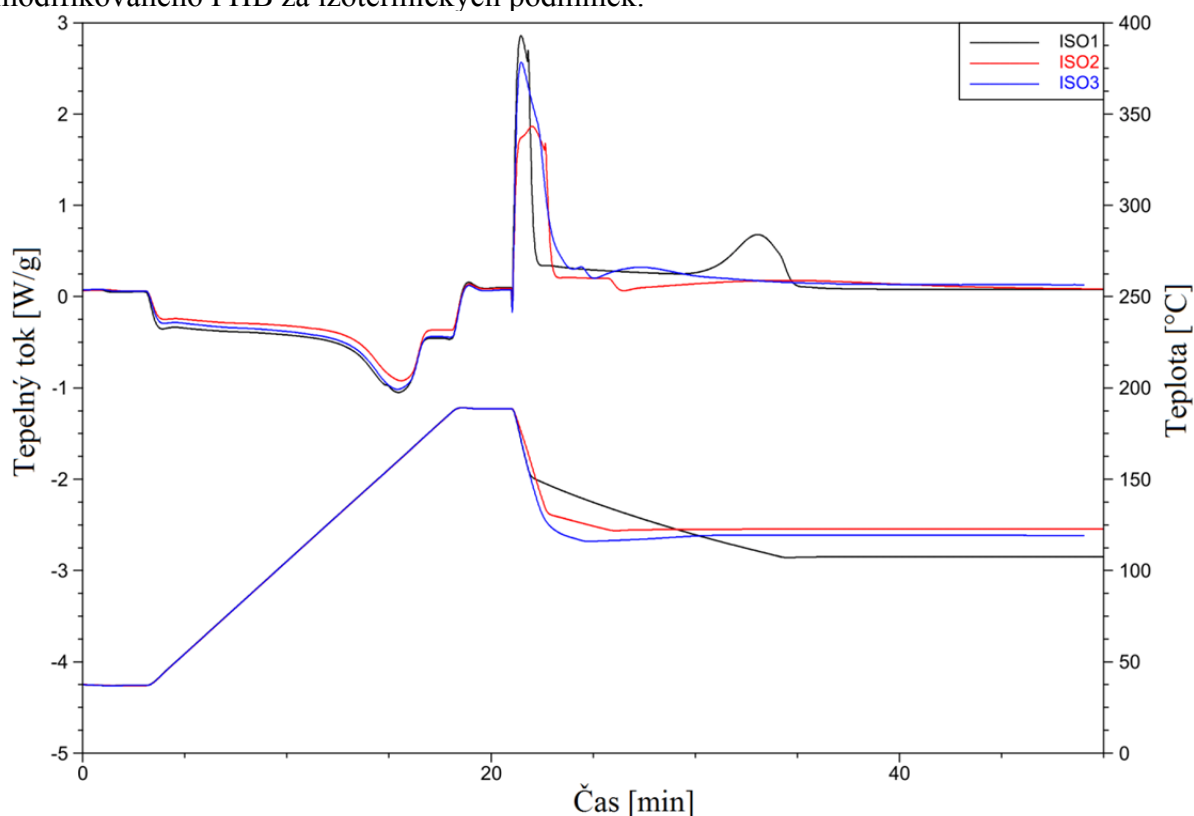
1. Temperace na teplotu 40 °C a výdrž 3 min,
2. Ohřev rychlostí 10 °C/min na teplotu 190 °C a zde výdrž 3 min,
3. Ochlazení rychlostí 25 °C/min na 125 °C a výdrž 120 min.

Při tomto teplotním programu již byla dodržena podmínka krystalizace při jedné dané teplotě, avšak chlazení opět nebylo dostatečné (viz obrázek 20). Vyzkoušena byla také metoda ISO3:

1. Temperace na teplotu 40 °C a výdrž 3 min,
2. Ohřev rychlostí 10 °C/min na teplotu 190 °C a zde výdrž 3 min,
3. Temperace na teplotu 120 °C a výdrž 120 minut,

která také nezajistila stálou rychlost chlazení (viz obrázek 20).

Z technických důvodů tedy nebylo možné provést měření kinetiky krystalizace chemicky modifikovaného PHB za izotermických podmínek.



Obr. 20 Izotermická krystalizace

### 3.4.2.2 Neizotermická krystalizace

Pro PHB1\_F, PHB14\_Cl a příslušné referenční materiály, tedy PHB1 a PHB14 bylo sledováno chování při krystalizaci z taveniny pro 4 různé rychlosti chlazení, a to 20, 10, 5 a 2,5 °C/min. Metoda měření byla následující:

1. Temperace na teplotu 40 °C a výdrž 3 min,
2. Ohřev rychlostí 10 °C/min na teplotu 190 °C a zde výdrž 3 min,
3. Ochlazení na teplotu 50 °C příslušnou rychlostí.

### **3.4.3 Dynamická mechanická analýza**

Vzorky PHB1\_F\_1 a PHB1\_F\_2 byly podrobeny dynamické mechanické analýze na přístroji DMA 2980 od firmy TA Instruments. Použita byla geometrie single cantilever, ve které je vzorek umístěn mezi svorkami, z nichž jedna periodicky mění svou pozici a způsobuje tak deformaci materiálu. Nastavený teplotní program byl:

1. Temperace na teplotu 40 °C a výdrž 3 min,
2. Ohřev rychlostí 5 °C/min na teplotu 150 °C a zde výdrž 3 min.

Kvůli absenci chladicího zařízení nebylo měřeno pod 40 °C, takže teplota skelného přechodu nebyla zjišťována.

## **3.5 Mechanická analýza**

### **3.5.1 Tahová zkouška**

Pro vzorky s označením PHB1\_F\_1–PHB1\_F\_4 byla provedena tahová zkouška s využitím Univerzálního zkušebního zařízení ZWICK Z 010 firmy Zwick – Roell. Vzorky byly vysekány do tvaru normovaných zkušebních těles 5B. Rychlost posuvu čelistí byla zvolena 1 mm/min. Měření neproběhlo s extenzometrem, protože u těles tohoto rozměru není jeho použití vhodné.

## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Vlastnosti chlorovaného PHB

U série materiálů chlorace byla pomocí TGA sledována termická stabilita a výsledky jednotlivých měření jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6 Výsledky termogravimetrické analýzy chlorovaných vzorků s referencí

vzorek	rychlost ohřevu [°C/min]	$T_1$ [°C]	$T_2$ [°C]
PHB14	10	258,9	277,7
PHB14_Cl	10	247,1	270,6
PHB14_Cl 0	10	262,8	277,6

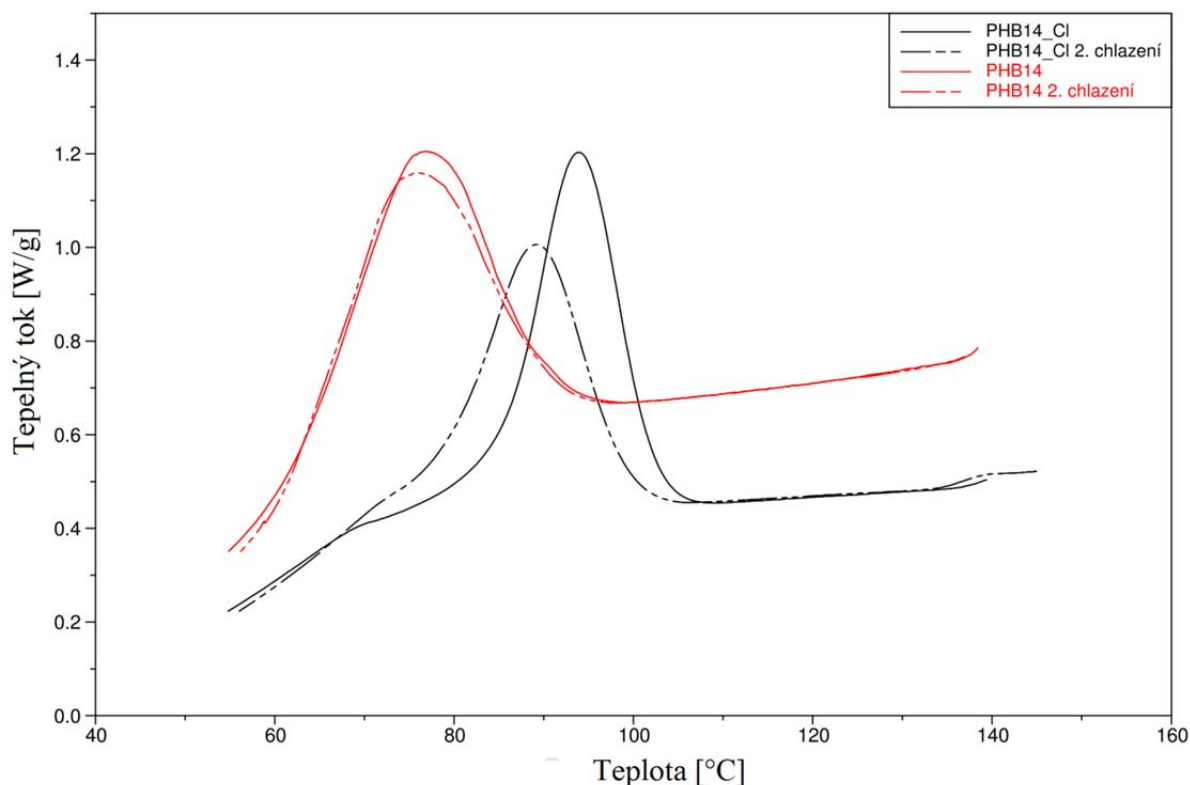
V případě vzorků PHB14\_Cl (vysušeno) a PHB14\_Cl\_0 (před vysušením), byl sledován vliv sušení na průběh rozkladu materiálu v závislosti na teplotě. Diskuze je uvedena v kapitole 3.2.1, termogravimetrické křivky na obrázku 16. Z TGA křivek vysušeného chlorovaného materiálu a referenčního PHB14 nelze s jistotou popsat vliv chlorace na termickou stabilitu PHB. Po sušení chlorovaného PHB při 80 °C na dobu 24 hodin byl pozorován pokles teploty maximálního rozkladu o 7 °C oproti nedosušenému PHB i referenčnímu vzorku. Je možné, že sušením došlo k degradaci PHB, nebyla však možnost ověřit tuto domněnku měřením distribuce molekulové hmotnosti na GPC.

Vliv přítomnosti atomu chloru ve struktuře PHB byl sledován i pomocí DSC. Pro měřené vzorky nebyla vyhodnocována jejich krystalinita, protože v případě PHB14\_Cl nejsou známy hodnoty krystalizačních tepel 100% krystalického polymeru. Je možné sledovat pouze vliv chemické úpravy na entalpii vztaženou na hmotnost vzorku. Celkové množství uvolněného tepla každého vzorku bylo proto označeno jako 100% a průběh křivek byl srovnáván za předpokladu, že vzorky mají podobnou hodnotu tepla při 100% krystalizaci. Termogram měření obsahující píky tání je uveden v příloze 1 a termogram krystalizace na obrázku 21, výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7 Výsledek DSC analýzy chlorovaného vzorku a reference

vzorek	1. ohřev		1. chlazení	2. ohřev		2. chlazení
	$T_{m1}$ [°C]	$T_m$ [°C]	$T_c$ [°C]	$T_{m1}$ [°C]	$T_m$ [°C]	$T_c$ [°C]
PHB14	168,3		76,4	165,9	173,2	75,6
PHB14_Cl	140,2	158,2	93,8	143,3	155,9	89,2

Porovnáním naměřených hodnot vzorků PHB14 a PHB14\_Cl lze usoudit, že chlorace materiálu vede ke snížení teploty tání a zvýšení teploty krystalizace. Tento trend je znatelný u obou cyklů měření. Obrázek 21 zobrazuje srovnání exotermních píků krystalizace naměřených metodou DSC200 pro oba materiály. U chlorovaného vzorku můžeme pozorovat snížení  $T_c$  druhého chlazení, což opět naznačuje nižší tepelnou stabilitu oproti referenci, u níž se posun druhého  $T_c$  neprojevil. Píky odpovídající chlorovanému polymeru jsou užší, což může být známkou rychlejšího průběhu krystalizace, než je u čistého polymeru.



Obr. 21 Exotermní píky PHB14 a PHB14\_Cl měřené metodou DSC200

Kinetika krystalizace byla zkoumána pomocí izotermního měření, bohužel přístroj bez chladicí jednotky, který byl pro tuto práci k dispozici, neumožnil dostatečně rychlé snížení teploty. Proto byla sledována neizotermní krystalizace v režimech popsaných v experimentální části. Pro všechna měření byl zjištěn průběh krystalizace hodnocením nárůstu relativní krystalinity  $X_c$  jako funkce teploty nebo času. Relativní krystalinita byla vypočtena podle rovnice (4). V přílohách 2 a 3 jsou zobrazeny exotermní píky krystalizace pro měřené vzorky PHB14 a PHB14\_Cl.

Závislost  $X_c = f(T)$  je pro referenční materiál (PHB14) na obrázku 22 a pro chlorovaný materiál na obrázku 23. Obrázek 24 a obrázek 25 zobrazují pro tyto dva vzorky grafy závislosti  $X_c = f(t)$ . V grafech jsou vyznačeny body na křivkách odpovídající přibližně 50% relativní krystalinitě. Časy potřebné k dosažení této hodnoty  $X_c$  a příslušné teploty pro všechny měřené vzorky ukazuje tabulka 8.

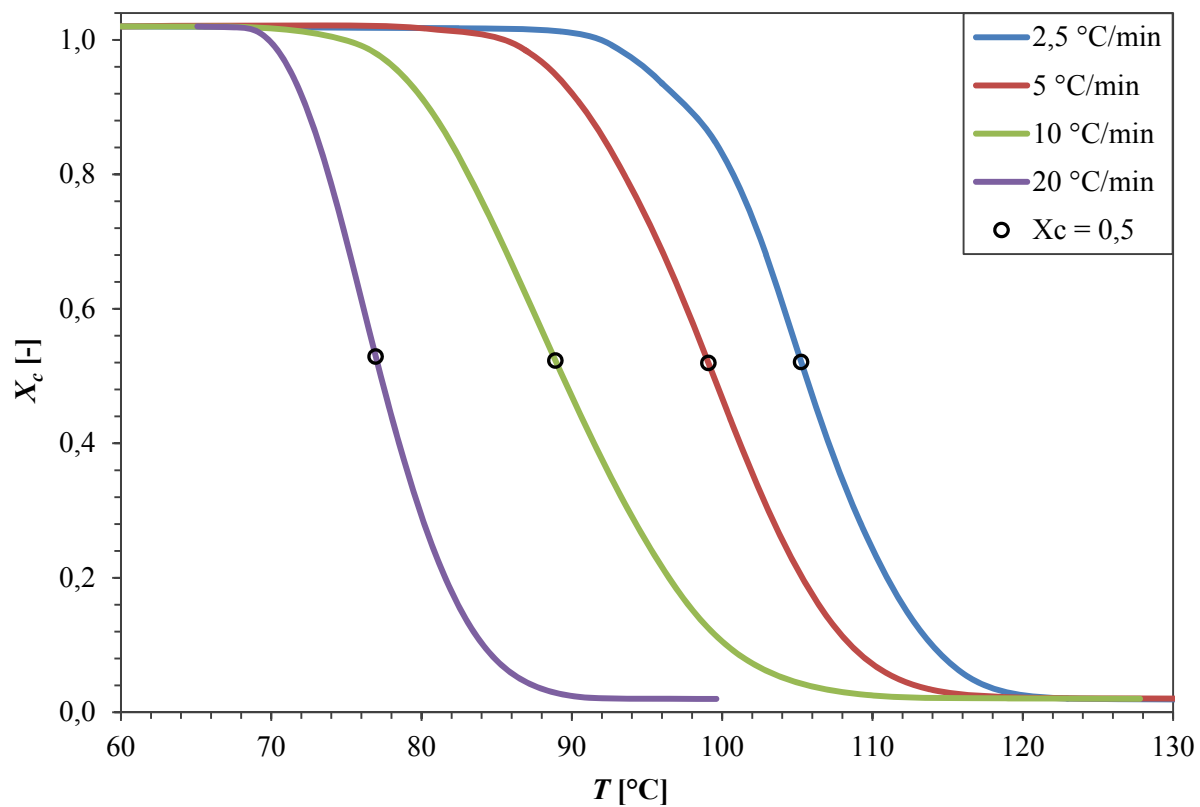
S vyšší rychlostí chlazení se obecně snižuje teplota krystalizace, což je v souladu s teorií nukleace. Také s vyšší rychlostí chlazení roste rychlost nárůstu relativní krystalinity. Z grafů závislosti  $X_c = f(T)$  vidíme, že pro chlorovaný vzorek chlazený rychlostí 20 °C/min byla teplota počátku krystalizace oproti referenci zvýšena o cca 10 °C, naproti tomu pro chlorovaný vzorek chlazený rychlostí 2,5 °C/min byla snížena o cca 6 °C. Teploty počátku krystalizace se u chlorovaného materiálu nacházejí ve velmi úzkém rozmezí oproti referenci.

Z obrázků 24 a 25 i z tabulky 8 je znatelný vliv chemického roubování na rychlost nárůstu relativní krystalinity v čase. Hodnoty  $X_c = 0,5$  bylo při měření s chlazením rychlostí 2,5 °C/min dosaženo u chlorovaného vzorku již po 3,7 minutách a u neupraveného vzorku po 6,3 minutách. Opět platí, že bez znalosti krystalinity materiálů nelze spolehlivě určit, že u upraveného materiálu je krystalizace rychlejší.

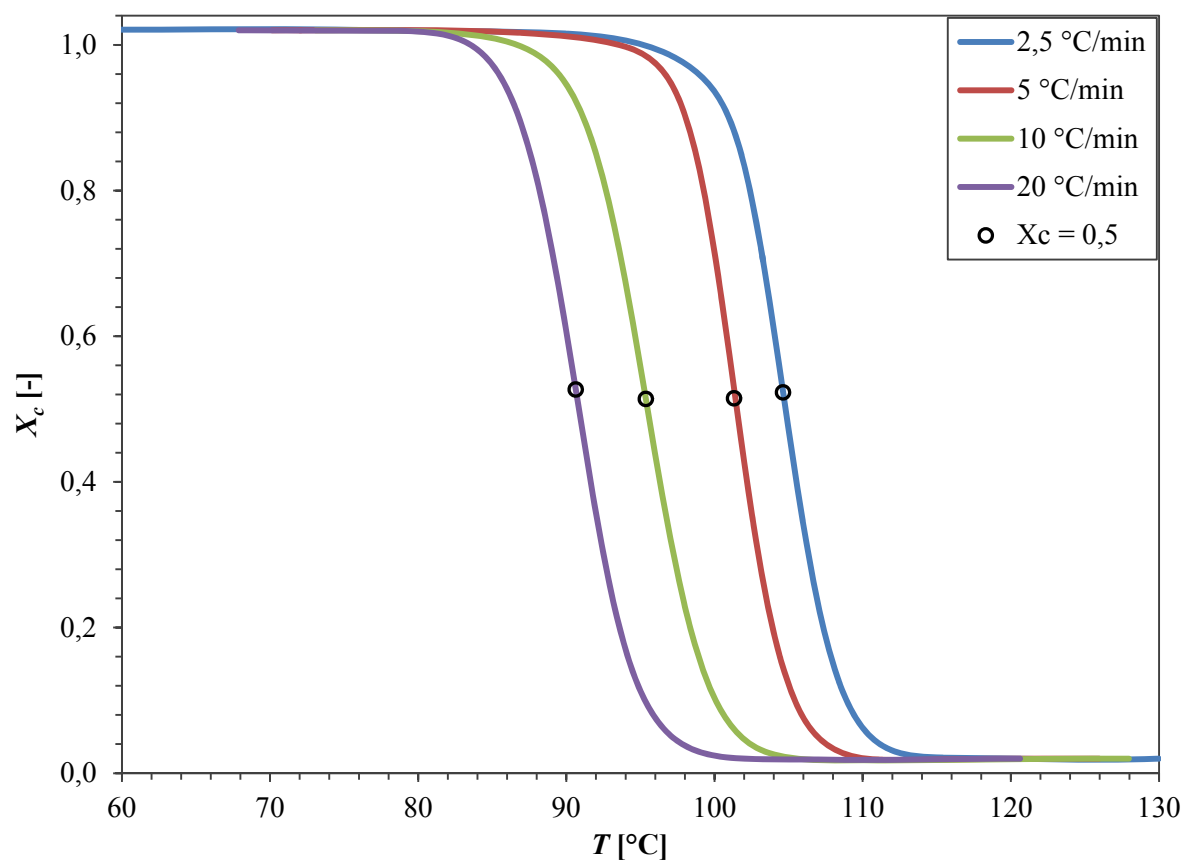


Tabulka 8 Hodnocení neizotermické krystalizace PHB14 a PHB14\_Cl

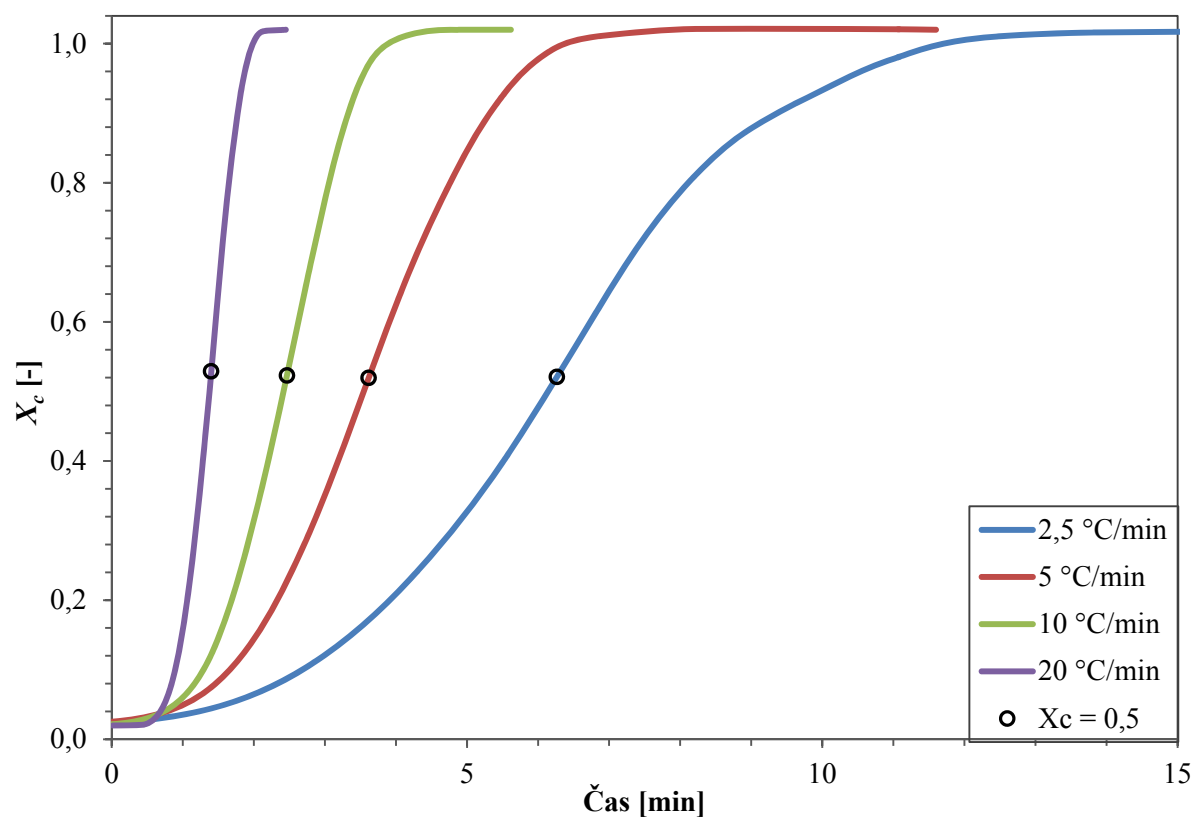
rychlost chlazení [°C/min]	Neupravený vzorek			Chlorovaný vzorek		
	$t_{0,5}$ [min]	$T_{0,5}$ [°C]	$X_c$ [-]	$t_{0,5}$ [min]	$T_{0,5}$ [°C]	$X_c$ [-]
2,5	6,3	105,3	0,50	3,7	104,6	0,50
5	3,6	99,1	0,50	2,1	101,3	0,49
10	2,5	88,9	0,50	1,5	95,4	0,49
20	1,4	77,0	0,51	1,2	90,6	0,51



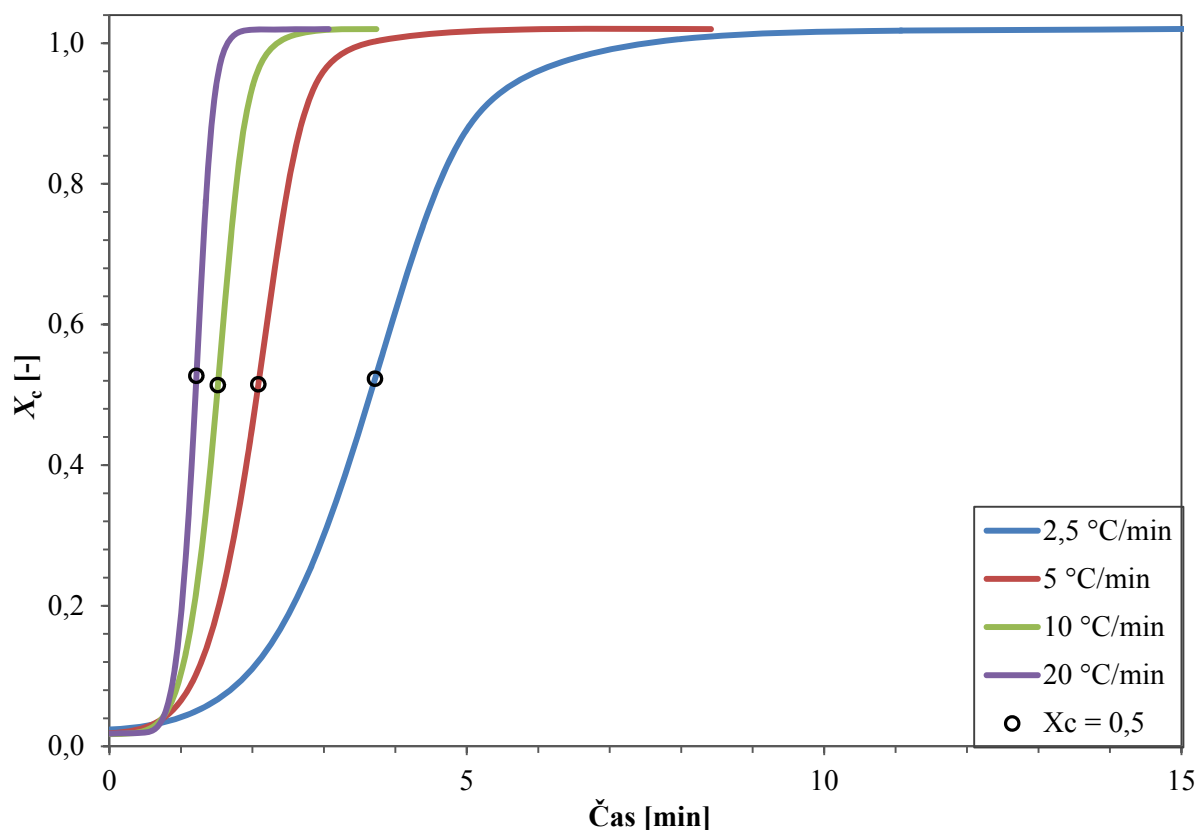
Obr. 22 Závislost  $X_c = f(T)$  pro PHB14



Obr. 23 Závislost  $X_c = f(T)$  pro PHB14-Cl



Obr. 24 Závislost  $X_c = f(t)$  pro PHB14



Obr. 25 Závislost  $X_c = f(t)$  pro PHB14\_Cl

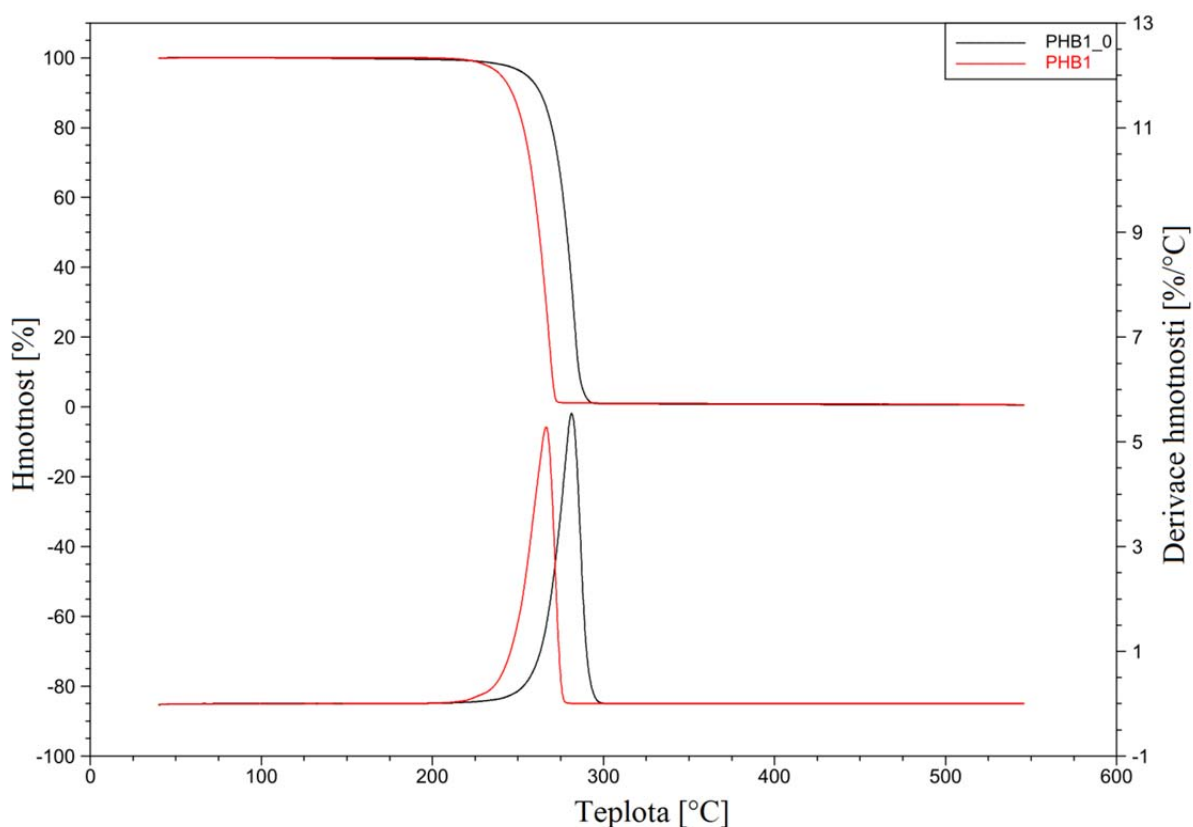
## 4.2 Vlastnosti fluorovaného PHB

PHB1 použitý v této práci pro fluoraci byl pořízen před třemi lety od společnosti Biomer. Jak je známo, PHB podléhá za působení vzdušné vlhkosti pozvolna hydrolytické degradaci, kdy se postupně snižuje jeho molekulová hmotnost a tím se mění i jeho další vlastnosti. Pořízený materiál byl uskladněn několika způsoby a distribuován po pracovišti. U vzorků PHB1, který byl uchováván v PE lahvi, a PHB1\_0, který byl uchováván ve skleněné ampuli, sledujeme vliv skladování materiálu na TG křivce. Jak je vidět z obrázku 26, teplota nejrychlejšího úbytku hmotnosti  $T_2$  je pro PHB1\_0 281,2 °C, což je o 14,6 °C vyšší než v případě PHB1. To může být způsobeno vyšším stupněm hydrolytické degradace materiálu, který byl uchováván v plastové nádobě. Tuto skutečnost nebylo možné vzhledem k malé dostupnosti GPC ověřit.

Dále byly porovnány TG křivky fluorovaných vzorků PHB1\_F a PHB1\_F\_1–4 s referencí PHB1, jak ukazuje obrázek 27. U vzorků PHB1 a PHB1\_F posuzujeme vliv samotné chemické úpravy na průběh rozkladu polymeru. Výsledky měření rychlostí ohřevu 20 °C/min naznačují, že teploty  $T_{1,2}$  byly u fluorovaného polymeru posunuty k vyšším hodnotám než u chemicky neupraveného materiálu. Došlo tedy ke zvýšení termické stability materiálu (viz tabulka 9). Pro potvrzení byla provedena přesná měření s rychlostí ohřevu 5 °C/min, jejichž výsledné křivky zobrazuje obrázek 28. Podle měření zvyšuje fluorace materiálu jeho teplotu rozkladu o cca 25,9 °C.

Tabulka 9 Výsledky termogravimetrické analýzy fluorovaných vzorků s referencí

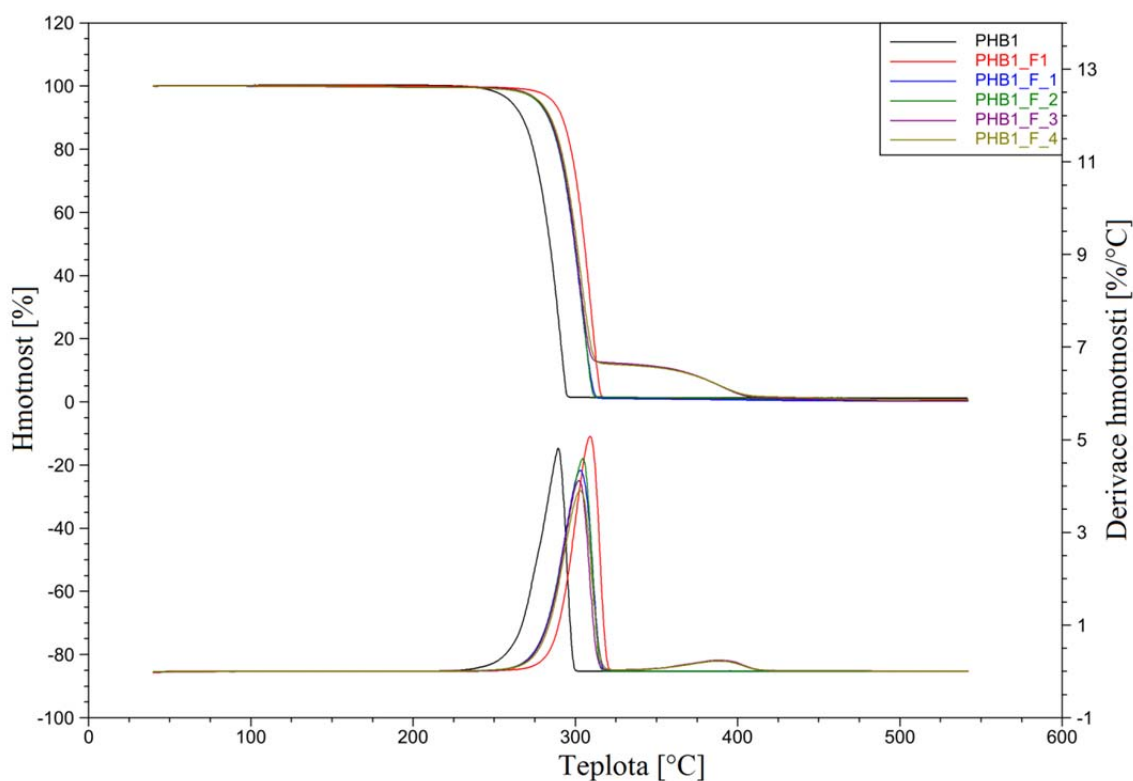
vzorek	rychlost ohřevu [°C/min]	$T_1$ [°C]	$T_2$ [°C]	$T'_1$ [°C]	$T'_2$ [°C]
PHB1	10	245,8	266,6		
PHB1_0	10	264,7	281,2		
PHB1	20	265,8	289,5		
PHB1_F	20	288,4	309,2		
PHB1_F_1	20	279,4	303,2		
PHB1_F_2	20	279,8	304,8		
PHB1_F_3	20	280,1	302,1	347,1	388,0
PHB1_F_4	20	280,2	302,9	348,7	388,8
PHB1	5	$229,4 \pm 0,5$	$247,8 \pm 0,3$		
PHB1_F	5	$257,3 \pm 0,6$	$273,7 \pm 0,3$		



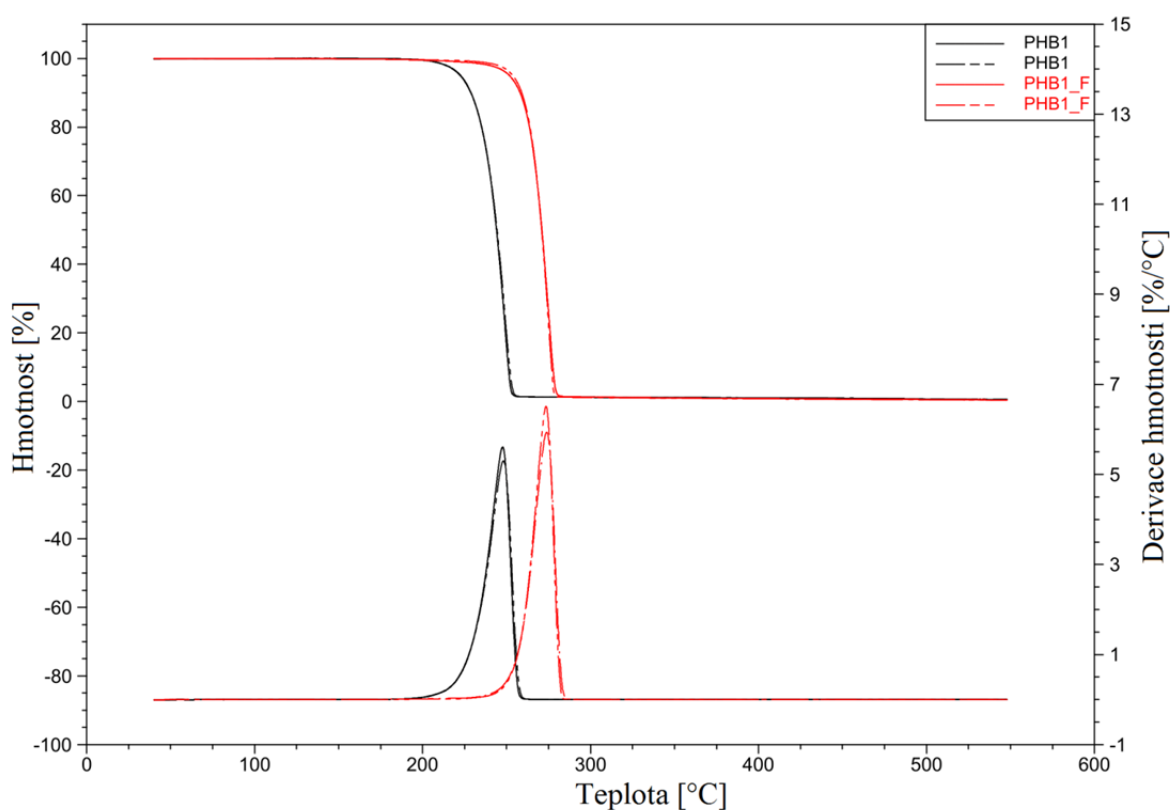
Obr. 26 TG křivky PHB1 a PHB1\_0

V případě srovnání fluorovaného vzorku ve formě prášku (PHB1\_F) a fluorovaného vzorku hněteného a lisovaného (PHB1\_F\_1) je znatelný vliv tepelného zpracování materiálu, které posunulo charakteristické teploty rozkladu k nižším teplotám. Konkrétně teplota  $T_2$  se snížila z 309,2 °C pro PHB1\_F na 303,2°C pro PHB1\_F\_1. Tento pokles se projevil u všech hnětených a lisovaných vzorků a může být vysvětlen částečnou degradací materiálu jako důsledek dlouhodobého působení vysokých teplot při zpracování. Nukleovaný fluorovaný polymer (PHB1\_F\_2) disponuje teplotou rozkladu 304,8 °C, což se od srovnávacího vzorku PHB1\_F\_1 liší pouze o 1,6 °C, nedošlo tedy k výraznému ovlivnění teploty rozkladu. Termogravimetrické křivky fluorovaných vzorků obsahujících plastifikátor PBS (PHB1\_F\_3

a PHB1\_F\_4) mají tvar odpovídající dvojstupňovému rozkladu, kde první stupeň kvalitativně odpovídá fluorovanému PHB a druhý PBS. Teplota rozkladu  $T_2$  pro fluorovaný polymer nebyla přidavkem plastifikátoru výrazně ovlivněna.



Obr. 27 Fluorované vzorky s referencí



Obr. 28 PHB1 a PHB1\_F rychlostí ohřevu 5 °C/min

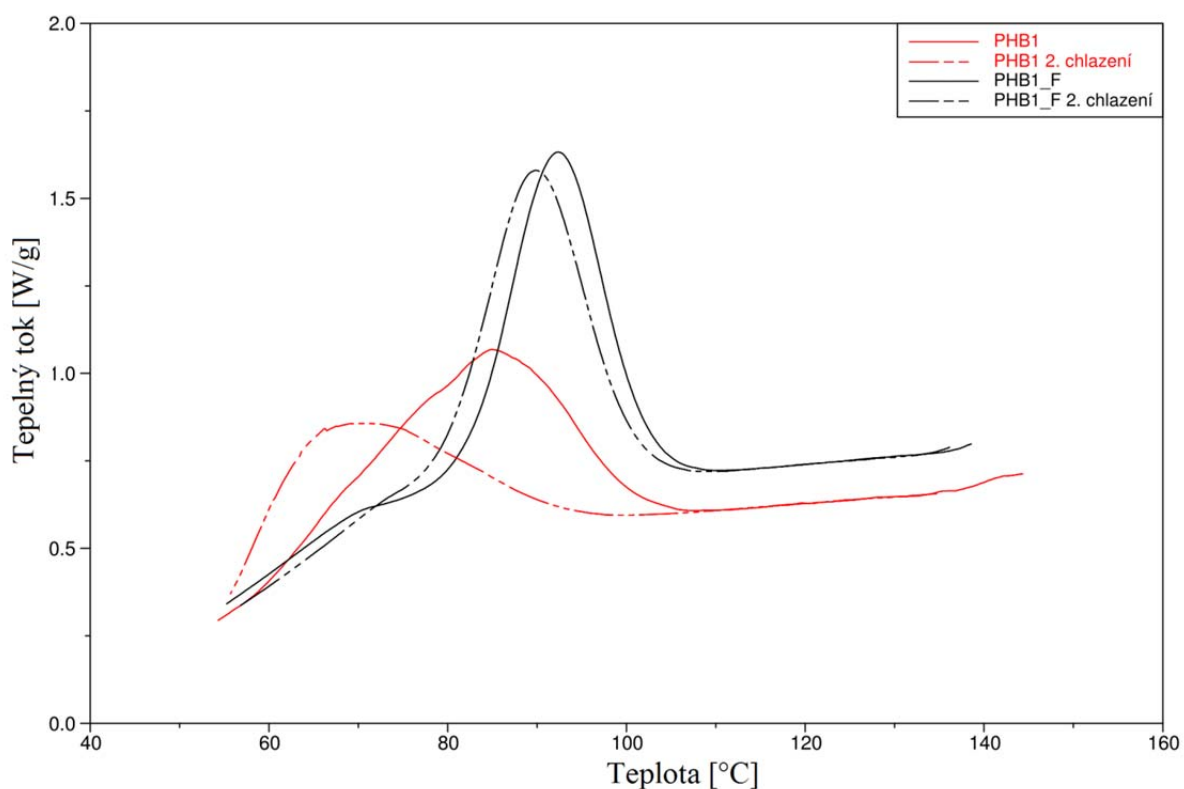
Za účelem sledování vlivu fluorace na průběh entalpických změn v materiálu byly metodou DSC200 proměřeny vzorky PHB1 (reference) a PHB1\_F.

Pro měřené vzorky nebyla vyhodnocována jejich krystalinita, protože v případě PHB1\_F nejsou známy hodnoty krystalizačního tepla 100% krystalického polymeru. Lze sledovat pouze nárůst entalpie vztaženou na hmotnost vzorku v čase. Výsledky měření, jehož termogramy se v případě krystalizace nacházejí na obrázku 29 a v případě tání v příloze 4, výsledky jsou uvedeny v tabulce 10.

Na obrázku 29 jsou zobrazeny exotermní píky krystalizace dvojice srovnávaných vzorků PHB1 a PHB1\_F naměřených metodou DSC200. Fluorovaný vzorek PHB1\_F vykazuje stejnou odezvu při prvním a druhém chlazení, což svědčí o tom, že podmínky tepelného cyklu strukturu polymeru nezměnily. Naproti tomu,  $T_c$  referenčního PHB1 se při druhém chlazení výrazně posunula k nižší teplotě oproti prvnímu chlazení. To je zřejmě důsledek vyšší tepelné stability fluorovaného polymeru oproti neupravenému polymeru, která byla zjištěna pomocí TGA.

Tabulka 10 Výsledky DSC analýzy fluorovaného polymeru a reference

vzorek	1. ohřev		1. chlazení	2. ohřev		2. chlazení
	$T_{m1}$ [°C]	$T_m$ [°C]	$T_c$ [°C]	$T_{m1}$ [°C]	$T_m$ [°C]	$T_c$ [°C]
PHB1	169,3		84,9	147,8	160,5	69,0
PHB1_F	161,2		92,3	158,2	160,9	89,7



Obr. 29 Exotermní píky PHB1 a PHB1\_F měřené metodou DSC200

Z hodnot uvedených v tabulce 10 je vidět, že fluorace materiálu vedla ke zvýšení teploty krystalizace, a to o 7,4 °C při prvním chlazení. To je pravděpodobně způsobeno větší stabilitou nukleačních zárodků vlivem fluorových skupin navázaných na základním řetězci polymeru. Navíc, exotermní píky krystalizace fluorovaného polymeru jsou oproti píků

čistého PHB1 vyšší a užší a odpovídají kratším krystalizačním časům, což naznačuje, že rychlost krystalizace je vyšší u fluorovaného materiálu (viz obrázek 29).

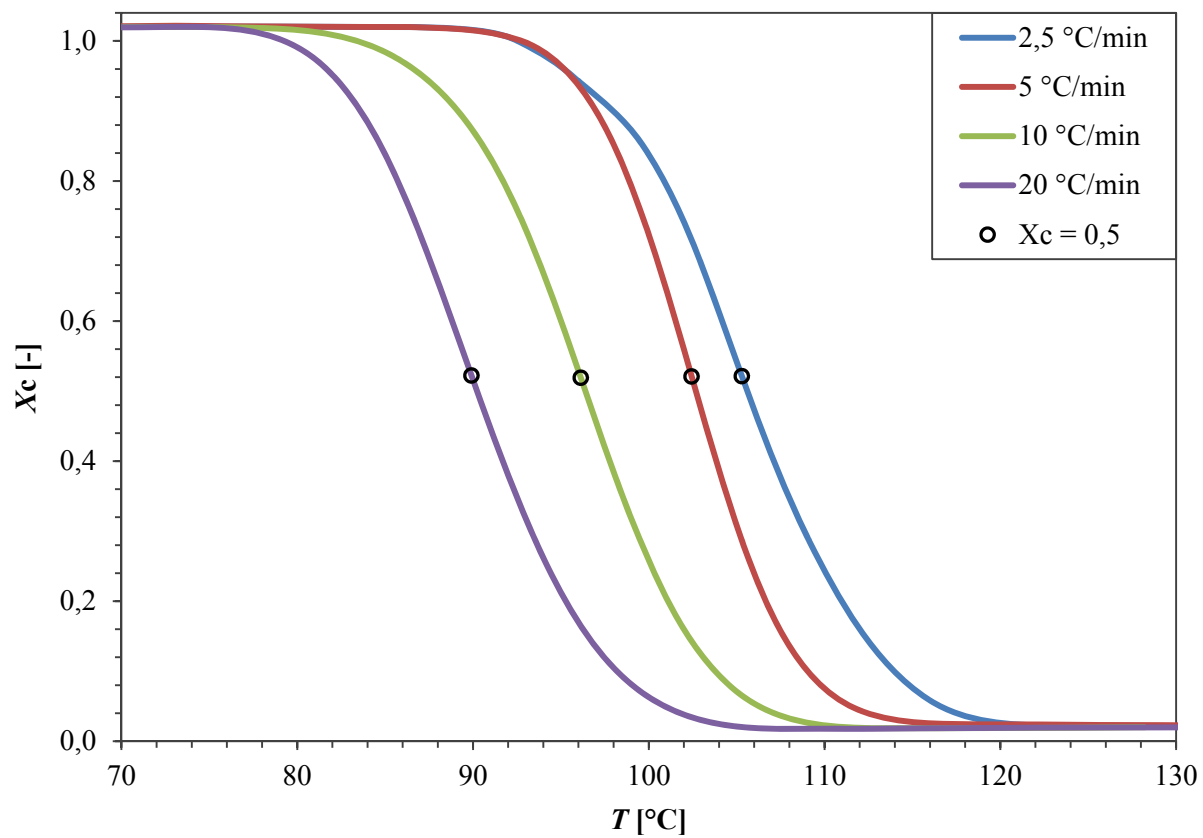
Jak je patrné z termogramu endotermního chování obou vzorků uvedeného v příloze 4, docházelo u obou vzorků při druhém ohřevu k rekrystalizaci taveniny, což se projevilo vznikem 2 endotermních píků. Tento jev je u PHB běžný a je popisován v literatuře [24].

Za účelem ověření a kvalitnějšího popisu změny nukleační aktivity fluorovaného PHB byla provedena série měření neizotermní krystalizace za podmínek uvedených v experimentální části. V příloze 5 a 6 jsou zobrazeny exotermní píky krystalizace pro měření nukleační aktivity vzorků PHB1 a PHB1\_F. Relativní krystalinita  $X_c$  byla vypočtena podle rovnice (4). Grafické znázornění závislosti  $X_c = f(T)$  pro referenční polymer PHB1 ukazuje obrázek 30 a pro fluorovaný PHB1\_F obrázek 31. Na obrázku 32 a 33 se nacházejí pro tyto dva vzorky grafy závislosti  $X_c = f(t)$ . V grafech jsou opět vyznačeny body odpovídající relativní krystalinitě cca 0,5. Tabulka 11 obsahuje pro oba srovnávané vzorky hodnoty časů a teplot, při kterých bylo dosaženo právě této hodnoty  $X_c$ . Z výsledků je patrné, že s vyšší rychlostí chlazení se snižuje teplota krystalizace a roste rychlost nárůstu relativní krystalinity. Oproti referenci disponuje fluorovaný materiál vyšší  $T_{0,5}$  a teplotou počátku krystalizace u všech rychlostí chlazení, což naznačuje jeho snadnější nukleaci. Největší rozdíl je pro rychlost chlazení 2,5 °C/min, při které fluorovaný vzorek dosáhl relativní krystalinity 0,5 již při 112,7 °C a neupravený vzorek při 105,3 °C.

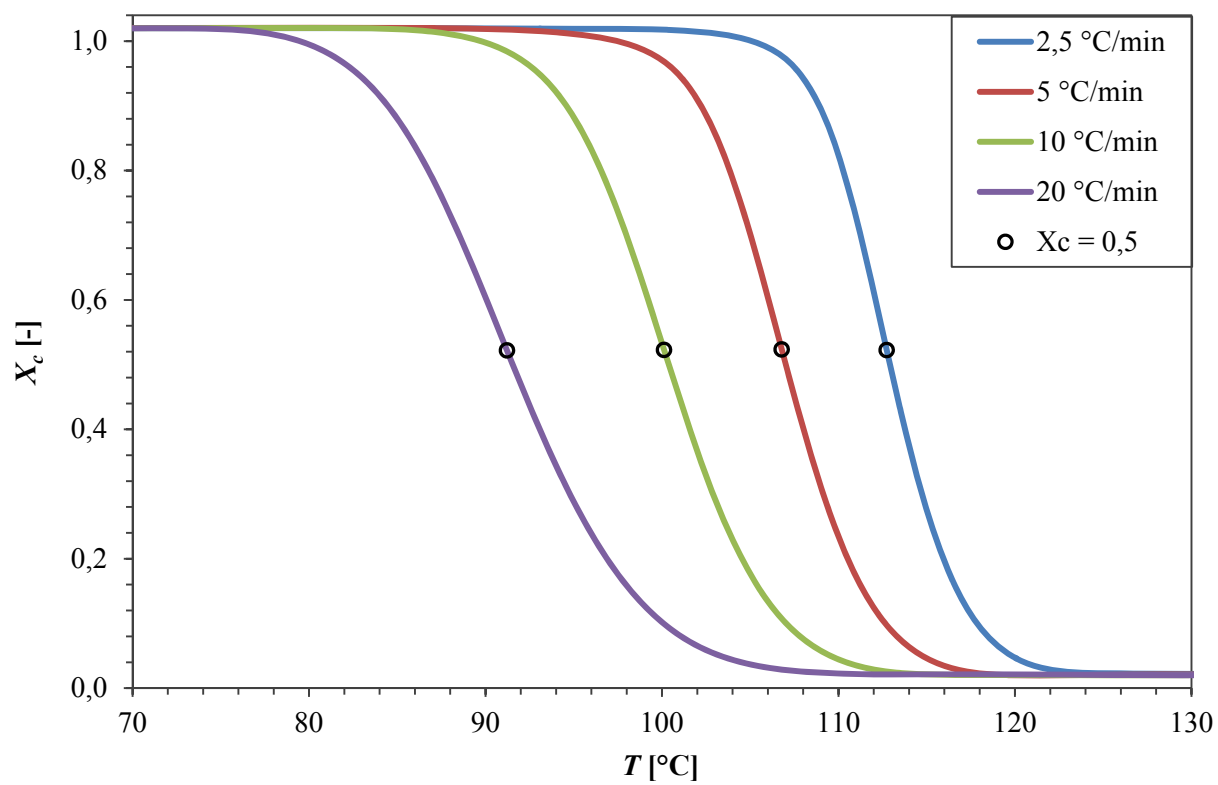
Pro všechna měření je patrná vyšší rychlost nárůstu relativní krystalinity u fluorovaného vzorku, nejvyšší rozdíl je pro chlazení rychlostí 2,5 °C/min. Při tomto měření dosáhl  $X_c = 0,5$  fluorovaný vzorek za 5 minut a neupravený za 7,2 minuty. Bez znalosti krystalinity materiálů však nelze říci, zda je u fluorovaného materiálu krystalizace rychlejší, nebo zda proběhla do nižšího stupně a tedy v kratším čase.

Tabulka 11 Hodnocení neizotermické krystalizace PHB1 a PHB1\_F

rychlost chlazení [°C/min]	Neupravený vzorek			Fluorovaný vzorek		
	$t_{0,5}$ [min]	$T_{0,5}$ [°C]	$X_c$ [-]	$t_{0,5}$ [min]	$T_{0,5}$ [°C]	$X_c$ [-]
2,5	7,2	105,3	0,50	5,0	112,7	0,50
5	4,0	102,4	0,50	3,6	106,8	0,50
10	3,1	96,1	0,50	2,8	100,1	0,50
20	2,6	89,9	0,50	2,5	91,2	0,50

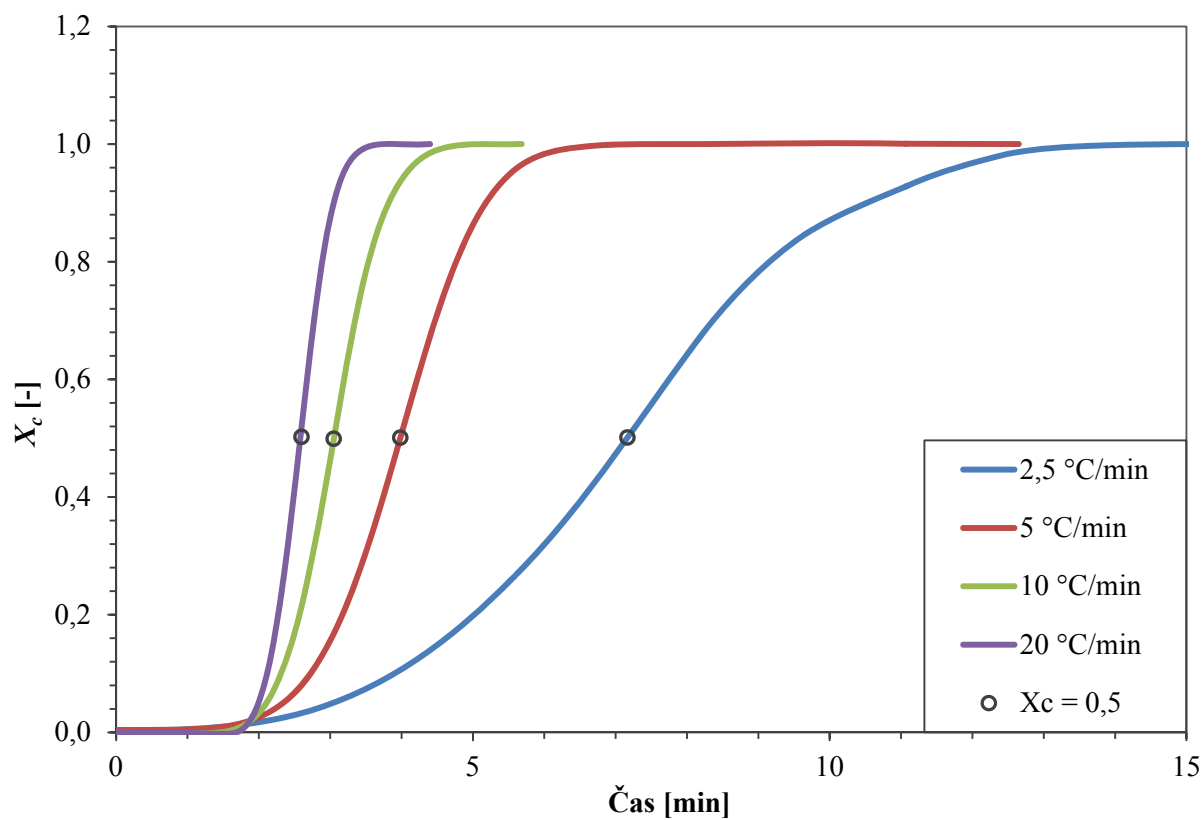


Obr. 30 Závislost  $X_c = f(T)$  pro PHB1

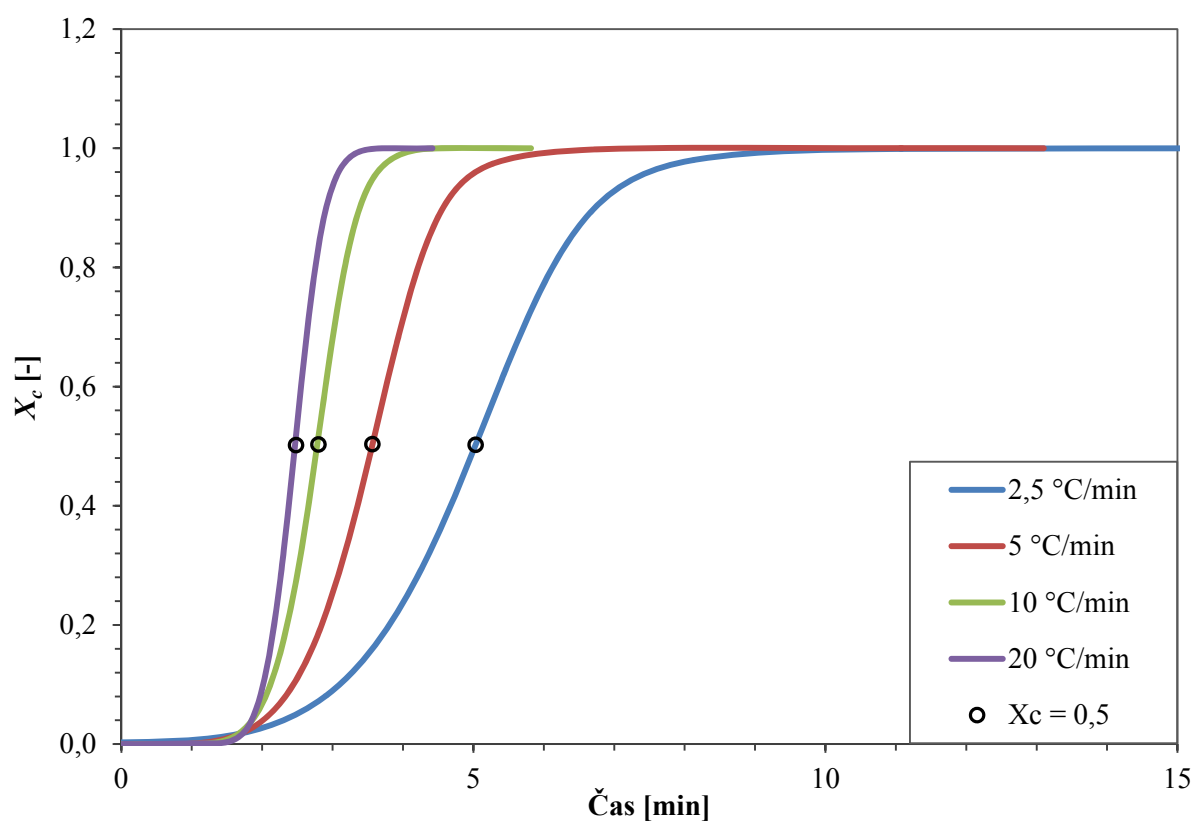


Obr. 31 Závislost  $X_c = f(T)$  pro PHB1\_F





Obr. 32 Závislost  $X_c = f(t)$  pro PHB1



Obr. 33 Závislost  $X_c = f(t)$  pro PHB1\_F

### 4.3 Mechanické vlastnosti fluorovaného PHB

Fluorace v průmyslovém reaktoru umožnila přípravu 500 g materiálu, což přineslo možnost otestovat chování polymeru při zpracování v laboratorním hnětáku. Z fluorovaného polymeru byly proto připraveny vzorky dle podmínek uvedených v experimentální části. Z vylisovaných folií byly výsekem zhotoveny vzorky pro dynamicko-mechanickou analýzu, která měla pomoci porovnat mechanické vlastnosti v závislosti na teplotě. Naproti tomu samotného referenčního vzorku bylo v době řešení práce k dispozici pouze malé množství, které neumožňovalo připravit referenční fólii. Jak již bylo zmíněno v experimentální části, dynamicko-mechanická analýza PHB1\_F\_1 a PHB1\_F\_2 nevedla k určení teploty skelného přechodu materiálu, která je mimo měřicí rozsah tohoto zařízení. Grafy závislosti elastického a ztrátového modulu a ztrátového činitele pro tyto vzorky jsou uvedeny v přílohách 7 a 8. U obou měření je znatelný značný šum, který byl pravděpodobně způsoben nehomogenitou vzorků, ve kterých se nacházely vzduchové bubliny. Hodnoty elastického modulu vykazovaly velký rozptyl i v rámci jedné série vzorků, proto nebylo v analýzách dále pokračováno.

Z části fólie byly připraveny vzorky pro tahovou zkoušku. Výsledky shrnuje tabulka 12. Naměřené tahové křivky jsou v přílohách 9, 10, 11 a 12. (z důvodu přehlednosti byly křivky jednotlivých měření od sebe posunuty ve směru osy  $x$ ). U vzorků PHB1\_F\_2–3 je porovnáním s referenčním vzorkem PHB1\_F\_1 patrný vliv aditiv na snížení pevnosti v tahu. Největší snížení je patrné u vzorku PHB1\_F\_3, který obsahuje plastifikátor PBS, a to až o cca 25 % původní hodnoty. Snižující se trend je patrný také u Youngova modulu pružnosti. Tento pokles naznačuje snížení tuhosti materiálu. U vzorku PHB1\_F\_4, který obsahuje PBS a BN jako nukleační činidlo, došlo ke snížení modulu pružnosti o 63 %. Zároveň také došlo ke zvýšení tažností o 55 % oproti PHB1\_F\_1. U všech vzorků byl pozorován křehký lom.

Tabulka 12 Tahová zkouška

	PHB1_F_1 ref.	PHB1_F_2 BN	PHB1_F_3 PBS	PHB1_F_4 BN + PBS
$n$ [-]	21	11	7	9
$E$ [GPa] <sup>1</sup>	$2,7 \pm 0,1$	$2,4 \pm 0,2$	$1,9 \pm 0,0$	$1,0 \pm 0,1$
$\sigma$ [MPa]	$41,8 \pm 4,3$	$34,5 \pm 5,2$	$29,5 \pm 2,2$	$30,2 \pm 2,4$
$\varepsilon$ [%]	$2,2 \pm 0,5$	$1,8 \pm 0,3$	$1,9 \pm 0,2$	$3,4 \pm 0,4$

<sup>1</sup> Hodnoty jsou měřené bez extenzometru, mají pouze orientační hodnotu.

## 5 ZÁVĚR

Polyhydroxybutyrát je moderním materiálem, který má své přednosti i nedostatky. Jednou z jeho negativních vlastností je schopnost krystalizovat do stavu, ve kterém je velmi křehký. Mezi možnosti, které se snaží tuto vlastnost ovlivnit, patří chemická modifikace polymerního řetězce roubováním postranních funkčních skupin. Cílem této bakalářské práce bylo proto vytvoření rešerše na téma chemických úprav polyhydroxybutyrátu a charakterizace vlivu dvou vybraných metod na jeho výsledné vlastnosti. Z nalezených informací byla vytipována halogenace chlorem a fluorem. Obě zmiňované metody však byly z důvodu nedostatku materiálu PHB provedeny na různých jeho typech.

Proces chlorace materiálu zahrnuje samotnou chemickou úpravu chlorem v roztoku chloroformu při ozáření halogenovou lampou a následné sušení materiálu. Termogravimetrickou analýzou bylo zjištěno, že chlorovaný materiál má mírně nižší tepelnou stabilitu než referenční vzorek, teplota rozkladu byla snížena o 7 °C. Tento fakt byl podpořen i analýzou pomocí diferenční kompenzační kalorimetrie, kdy podmínky teplotních cyklů změnily strukturu chlorovaného materiálu, což se projevilo posunem teploty krystalizace druhého chlazení o 4,6 °C. Chlorace materiálu také zapříčinila znatelné snížení teploty tání při prvním ohřevu o 18,1 °C. U tohoto vzorku se též projevila rekrystalizace z taveniny pozorovaná při prvním tání, která nebyla u referenčního materiálu pozorovaná. Vysvětlením může být fakt, že tyto vzorky neměly dostatečně dlouhou dobu k rekrystalizaci, která u PHB díky jeho nízké teplotě skelného přechodu probíhá i při pokojové teplotě. U chlorovaného materiálu byla dále sledována nukleační aktivita pomocí neizotermní krystalizace při různých rychlostech chlazení. Porovnáním s referenčním materiálem pozorujeme vliv chlorace na závislost teploty počátku krystalizace na rychlosti chlazení. Teploty počátku krystalizace se u chlorovaného materiálu nacházejí ve výrazně užším intervalu než je tomu u referenčního vzorku a jsou méně ovlivněny rychlostí chlazení. Časová závislost nárůstu relativní krystalinity pro chlorovaný vzorek měla značně strmější průběh, než tomu bylo u reference, což naznačuje rychlejší průběh krystalizace. Rychlejší krystalizace může přímo souviset s předpokládanou nižší molekulovou hmotností chlorovaného PHB.

Jako druhá chemická úprava byla použita fluorace PHB. U fluorovaného vzorku a jeho reference byla podobně jako v předchozím případě provedena termická analýza za účelem zjištění jeho termické stability. Bylo zjištěno, že došlo ke zvýšení teploty rozkladu o téměř 26 °C. Z výsledků termogravimetrické analýzy však vidíme, že následná tepelná úprava fluorovaného materiálu jeho teplotu rozkladu opět snižuje, pravděpodobně následkem snížení molekulové hmotnosti. Vyšší tepelná stabilita fluorovaného materiálu oproti referenci byla potvrzena i kalorimetrickým měřením, kde píky krystalizace nevykazovaly vlivem tepelných cyklů žádný posun. Měření neizotermické krystalizace fluorovaného materiálu poskytlo výsledky, které naznačují zvýšenou nukleační aktivitu oproti referenci. Pro všechny rychlosti chlazení došlo u chemicky upraveného vzorku ke zvýšení teploty počátku krystalizace. Navíc, z hodnot poločasů krystalizace, které jsou nižší u fluorovaného polymeru pro všechny rychlosti chlazení, lze usoudit, že průběh krystalizace je u fluorovaného polymeru rychlejší. Tato skutečnost může být způsobena nižší molekulovou hmotností. Ta však nemohla být měřena z důvodu nerozpustnosti fluorovaného polymeru v rozpouštědlech vhodných pro gelovou permeační chromatografii.

Z fluorovaného materiálu byla vytvořena série vzorků, které byly zahrnuty s nukleačním činidlem, plastifikátorem, případně s obojím. Všechny fluorované vzorky s aditivy a referenční fluorovaný vzorek bez přídavku aditiv byly dále vylisovány do tvaru fólií.

U dvou z těchto vzorků byla provedena dynamicko-mechanická analýza, která však nevedla k určení teploty skelného přechodu a její výsledky nemají další vypovídací hodnotu. U všech vzorků včetně referenčního byly testovány jejich mechanické vlastnosti tahovou zkouškou. U nukleovaného vzorku nedošlo v rámci chyby měření k výraznému ovlivnění mechanických vlastností. Naproti tomu u vzorků s přidaným plastifikátorem je patrné výrazné snížení pevnosti v tahu a Youngova modulu pružnosti. Materiál obsahující obě aditiva vykazoval oproti ostatním vzorkům vyšší hodnotu tažnosti. Nicméně toto zvýšení není nijak výrazné, podobných hodnot lze dosáhnout i méně náročnými metodami.

Modifikace PHB fluorací poskytla zajímavé výsledky týkající se zvýšení tepelné stability fluorovaného polymeru. Vzhledem k malému dostupnému množství materiálu a dlouhé době, po kterou byl referenční materiál skladován, bude tomuto zjištěnému efektu věnována větší pozornost.

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] URTUVIA, Viviana, Pamela VILLEGAS, Myriam GONZÁLEZ, Michael SEEGER a PREUSTING. Bacterial production of the biodegradable plastics polyhydroxyalkanoates: Past, Present and Future. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2014, vol. 70, č. 9, s. 113-117 [cit. 2014-10-17]. DOI: 10.1007/978-94-009-2129-0\_10. Dostupné z: [sciencedirect.com](http://sciencedirect.com)
- [2] Synthesis and modification of polyhydroxybutyrate – A small review. *Popular Plastics & Packaging* [online]. 2012, roč. 57, č. 8 [cit. 2014-10-17]. Dostupné z: [connection.ebscohost.com](http://connection.ebscohost.com)
- [3] Biodegradable polymers – Technology and business opportunities. *Popular Plastics & Packaging* [online]. 2014, roč. 59, č. 3 [cit. 2014-10-17]. Dostupné z: [connection.ebscohost.com](http://connection.ebscohost.com)
- [4] *Biopolymers: Polyesters I Biological system and Biotechnological Production*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002, 460 s. ISBN 35-273-0224-7.
- [5] DAWES, Edwin A. Polyhydroxybutyrate: An intriguing biopolymer. *Bioscience Reports* [online]. 1988, roč. 8, č. 6 [cit. 2014-10-22]. Dostupné z: [all-portland.net](http://all-portland.net)
- [6] MICHAEL C. FLICKINGER, Michael C. Stephen W. *Encyclopedia of Bioprocess Technology*. Chichester: Wiley-Interscience, 2008. ISBN 978-047-1250-586.
- [7] REDDY, C.S.K, R GHAI, RASHMI a V.C KALIA. Polyhydroxyalkanoates: an overview. *Bioresource Technology* [online]. 2003, vol. 87, issue 2, s. 137-146 [cit. 2014-10-22]. DOI: 10.1016/S0960-8524(02)00212-2. Dostupné z: [sciencedirect.com](http://sciencedirect.com)
- [8] WANG, Ying, Jin YIN a Guo-Qiang CHEN. Polyhydroxyalkanoates, challenges and opportunities. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. 2014, vol. 30, č. 3, s. 59-65 [cit. 2014-10-22]. DOI: 10.1016/j.copbio.2014.06.001. Dostupné z: [sciencedirect.com](http://sciencedirect.com)
- [9] CHEN, Guo-Qiang. *Plastics from Bacteria Natural Functions and Applications*. Heidelberg: Springer, 2010, 17–37. ISBN 9783642032875.
- [10] KHANNA, Shilpi a Ashok K. SRIVASTAVA. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. *Process Biochemistry* [online]. 2005, vol. 40, issue 2, s. 607-619 [cit. 2014-10-24]. DOI: 10.1016/j.procbio.2004.01.053. Dostupné z: [sciencedirect.com](http://sciencedirect.com)
- [11] RYU, Hee Wook, Sei Kwang HAHN, Yong Keun CHANG a Ho Nam CHANG. Production of poly(3-hydroxybutyrate) by high cell density fed-batch culture of *Alcaligenes eutrophus* with phosphate limitation. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. 1997, vol. 55, issue 1, s. 28-32 [cit. 2014-10-24]. DOI: 10.1002/(sici)1097-0290(19970705)55:1<28::aid-bit4>3.3.co;2-7. Dostupné z: [academia.edu](http://academia.edu)
- [12] WANG, F. Poly(3-hydroxybutyrate) production with high productivity and high polymer content by a fed-batch culture of *Alcaligenes latus* under nitrogen limitation. *Applied and environmental microbiology* [online]. 1997, vol. 63, issue 9, s. 3703-3706 [cit. 2014-10-25]. Dostupné z: [aem.asm.org](http://aem.asm.org)
- [13] WANG, Fulai a Sang Yup LEE. Production of poly(3-hydroxybutyrate) by fed-batch culture of filamentation-suppressed recombinant *Escherichia coli*. *Applied and*

- Environmental Microbiology* [online]. 1997, roč. 63, č. 12, 4765 – 4769 [cit. 25. 10. 2014]. Dostupné z: [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov)
- [14] POIRIER, Y., D. E. DENNIS, K. KLOMPARENS a C. SOMERVILLE. Polyhydroxybutyrate, a Biodegradable Thermoplastic, Produced in Transgenic Plants. *Science* [online]. 1992-04-24, vol. 256, issue 5056, s. 520-523 [cit. 2014-10-25]. DOI: 10.1126/science.256.5056.520. Dostupné z: [sciencemag.org](http://sciencemag.org)
- [15] SOMLEVA, Maria N., Oliver P. PEOPLES a Kristi D. SNELL. PHA Bioplastics, Biochemicals, and Energy from Crops. *Plant Biotechnology Journal* [online]. 2013, vol. 11, issue 2, s. 233-252 [cit. 2014-10-25]. DOI: 10.1111/pbi.12039. Dostupné z: [onlinelibrary.wiley.com](http://onlinelibrary.wiley.com)
- [16] JOHN, M. E. a G. KELLER. Metabolic pathway engineering in cotton: Biosynthesis of polyhydroxybutyrate in fiber cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 1996-11-12, vol. 93, issue 23, s. 12768-12773 [cit. 2014-10-25]. DOI: 10.1073/pnas.93.23.12768. Dostupné z: [pnas.org](http://pnas.org)
- [17] Poly(3-hydroxybutyrate). MARK, James E. Polymer data handbook [online]. 2nd ed. New York: Oxford University Press, 2009 [cit. 2014-10-26]. 2. ISBN 0195181018.
- [18] *Biopolymers: Polyesters II Properties and Chemical Synthesis*. Weinheim: Wiley-VCH, 2002, 468 s. ISBN 35-273-0219-0.
- [19] SUDESH, K, H ABE a Y DOI. Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters. *Progress in Polymer Science* [online]. 2000, vol. 25, issue 10, s. 1503-1555 [cit. 2015-04-19]. DOI: 10.1016/S0079-6700(00)00035-6. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [20] DE KONING, G.J.M., H.M.M. VAN BILSEN, P.J. LEMSTRA, W. HAZENBERG, B. WITHOLT, H. PREUSTING, J.G. VAN DER GALIËN, A. SCHIRMER a D. JENDROSSEK. A biodegradable rubber by crosslinking poly(hydroxyalkanoate) from *Pseudomonas oleovorans*. *Polymer* [online]. 1994, vol. 35, issue 10, s. 2090-2097 [cit. 2014-10-26]. DOI: 10.1016/0032-3861(94)90233-X. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [21] PUENTE, Jorge Arturo Soto, Antonella ESPOSITO, Frédéric CHIVRAC a Eric DARGENT. Effect of boron nitride as a nucleating agent on the crystallization of bacterial poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2013-06-05, vol. 128, issue 5, s. 2586-2594 [cit. 2014-10-28]. DOI: 10.1002/app.38182. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [22] DI LORENZO, Maria Laura a Maria Cristina RIGHETTI. Evolution of crystal and amorphous fractions of poly[(R)-3-hydroxybutyrate] upon storage. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. 2013, vol. 112, issue 3, s. 1439-1446 [cit. 2014-10-29]. DOI: 10.1007/s10973-012-2734-3. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)
- [23] PAZUR, Richard J., Philippa J. HOCKING, Stéphane RAYMOND a Robert H. MARCHESSAULT. Crystal Structure of Syndiotactic Poly( $\beta$ -hydroxybutyrate) from X-ray Fiber and Powder Diffraction Analyses and Molecular Modeling. *Macromolecules* [online]. 1998, vol. 31, issue 19, s. 6585-6592 [cit. 2014-10-29]. DOI: 10.1021/ma9718558. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [24] ZIAEE, Zainab a Pitt SUPAPHOL. Non-isothermal melt- and cold-crystallization kinetics of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Testing* [online]. 2006, vol. 25, issue 6, s.

- 807-818 [cit. 2015-04-23]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2006.04.009. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [25] Alphabetic list of Materials Goodfellow Catalogue. *Supplier of materials for research and development - Goodfellow* [online]. 2008 [cit. 2014-10-29]. Dostupné z: [goodfellow.com](http://goodfellow.com)
- [26] TianAn Biopolymer: Nature's Eco-Friendly Solution. *TianAn Biopolymer: Nature's Eco-Friendly Solution* [online]. 2012 [cit. 2014-10-29]. Dostupné z: [tianan-enmat.com](http://tianan-enmat.com)
- [27] Poly[(R)-3-hydroxybutyric acid] natural origin | Sigma-Aldrich. *Czech Republic | Sigma-Aldrich* [online]. 2014 [cit. 2014-10-29]. Dostupné z: [sigmaaldrich.com](http://sigmaaldrich.com)
- [28] ZINN, Manfred, Bernard WITHOLT a Thomas EGLI. Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2001, vol. 53, issue 1, s. 5-21 [cit. 2014-10-29]. DOI: 10.1016/S0169-409X(01)00218-6. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [29] BUCCI, D.Z., L.B.B. TAVARES a I. SELL. Biodegradation and physical evaluation of PHB packaging. *Polymer Testing* [online]. 2007, vol. 26, issue 7, s. 908-915 [cit. 2014-10-30]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2007.06.013. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [30] BUCCI, D.Z., L.B.B. TAVARES a I. SELL. PHB packaging for the storage of food products. *Polymer Testing* [online]. 2005, vol. 24, issue 5, s. 564-571 [cit. 2014-10-30]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2005.02.008. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [31] GAO, Xue, Jin-Chun CHEN, Qiong WU a Guo-Qiang CHEN. Polyhydroxyalkanoates as a source of chemicals, polymers, and biofuels. *Current Opinion in Biotechnology* [online]. 2011, vol. 22, issue 6, s. 768-774 [cit. 2014-10-31]. DOI: 10.1016/j.copbio.2011.06.005. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [32] PHILIP, S., T. KESHAVARZ a I. ROY. Polyhydroxyalkanoates: biodegradable polymers with a range of applications. *Journal of Chemical Technology* [online]. 2007, vol. 82, issue 3, s. 233-247 [cit. 2014-10-31]. DOI: 10.1002/jctb.1667. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [33] AKIYAMA, Minoru, Yasuo TAIMA, Yoshiharu DOI, Takeharu TSUGE, Kenji SONOMOTO a Ayaaki ISHIZAKI. Production of poly(3-hydroxyalkanoates) by a bacterium of the genus *Alcaligenes* utilizing long-chain fatty acids. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 1992, vol. 37, issue 6, s. - [cit. 2014-11-02]. DOI: 10.1007/BF00174830. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)
- [34] PAUL, Donald R a C BUCKNALL. *Polymer blends*. New York: Wiley, c2000, 182–183. ISBN 0471352802-.
- [35] ZHOU, Xiao-Yun, Xiao-Xi YUAN, Zhen-Yu SHI, De-Chuang MENG, Wen-Jun JIANG, Lin-Ping WU, Jin-Chun CHEN a Guo-Qiang CHEN. Hyperproduction of poly(4-hydroxybutyrate) from glucose by recombinant *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories* [online]. 2012, vol. 11, issue 1, s. 54- [cit. 2014-11-03]. DOI: 10.1186/1475-2859-11-54. Dostupné z: [microbialcellfactories.com](http://microbialcellfactories.com)
- [36] WEN, Xing, Xiuping LU, Quan PENG, Fuyan ZHU a Ning ZHENG. Crystallization behaviors and morphology of biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-4-hydroxybutyrate). *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. 2012, vol.

- 109, issue 2, s. 959-966 [cit. 2014-11-03]. DOI: 10.1007/s10973-011-1768-2. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)
- [37] DOI, Yoshiharu, Shiro KITAMURA a Hideki ABE. Microbial Synthesis and Characterization of Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate). *Macromolecules* [online]. 1995, vol. 28, issue 14, s. 4822-4828 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1021/ma00118a007. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [38] ANDREESSEN, B. a A. STEINBUCHER. Biosynthesis and Biodegradation of 3-Hydroxypropionate-Containing Polyesters. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 2010-07-23, vol. 76, issue 15, s. 4919-4925 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1128/AEM.01015-10. Dostupné z: [aem.asm.org](http://aem.asm.org)
- [39] CHAN, Rodman T. H., Robert A. RUSSELL, Helder MARÇAL, Terry H. LEE, Peter J. HOLDEN a L. John R. FOSTER. BioPEGylation of Polyhydroxybutyrate Promotes Nerve Cell Health and Migration. *Biomacromolecules* [online]. 2014-01-13, vol. 15, issue 1, s. 339-349 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1021/bm401572a. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [40] ABE, Hideki a Yoshiharu DOI. Side-Chain Effect of Second Monomer Units on Crystalline Morphology, Thermal Properties, and Enzymatic Degradability for Random Copolyesters of (R)-3-Hydroxybutyric Acid with (R)-3-Hydroxyalkanoic Acids. *Biomacromolecules* [online]. 2002, vol. 3, issue 1, s. 133-138 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1021/bm0155975. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [41] AOYAGI, Yoshihiro, Yoshiharu DOI a Tadahisa IWATA. Mechanical properties and highly ordered structure of ultra-high-molecular-weight poly[(R)-3-hydroxybutyrate] films: Effects of annealing and two-step drawing. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2003, vol. 79, issue 2, s. 209-216 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1016/S0141-3910(02)00273-2. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [42] CASARANO, Romeu, Denise F. S. PETRI, Michael JAFFE a Luiz H. CATALANI. Block Copolymers Containing (R)-3-Hydroxybutyrate and Isosorbide Succinate or (S)-Lactic Acid Mers. *Journal of Polymers and the Environment* [online]. 2010, vol. 18, issue 1, s. 33-44 [cit. 2014-12-25]. DOI: 10.1007/s10924-009-0157-4. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)
- [43] ZHAO, Qiang, Guoxiang CHENG, Haiming LI, Xiaolu MA a Liguang ZHANG. Synthesis and characterization of biodegradable poly(3-hydroxybutyrate) and poly(ethylene glycol) multiblock copolymers. *Polymer* [online]. 2005, vol. 46, issue 23, s. 10561-10567 [cit. 2014-12-25]. DOI: 10.1016/j.polymer.2005.08.014. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [44] IMPALLOMENI, Giuseppe, Giovanni Marco CARNEMOLLA, Giuseppe PUZZO, Alberto BALLISTRERI, Lucrezia MARTINO a Mariastella SCANDOLA. Characterization of biodegradable poly(3-hydroxybutyrate-co-butylene adipate) copolymers obtained from their homopolymers by microwave-assisted transesterification. *Polymer* [online]. 2013, vol. 54, issue 1, s. 65-74 [cit. 2014-12-25]. DOI: 10.1016/j.polymer.2012.11.030. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [45] JIANG, Tao, Ping HU, Tsutomu MITOBE, Hiroshi MITOMO, Noriaki SEKO a Masao TAMADA. Radiation-Induced Graft Polymerization of Isoprene onto



- Polyhydroxybutyrate. *Polymer Journal* [online]. 2001, vol. 33, issue 9, s. 647- [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1295/polymj.33.647. Dostupné z: [joi.jlc.jst.go.jp](http://joi.jlc.jst.go.jp)
- [46] HSIEH, Wen-Chuan, Yuki WADA, Tsutomu MITOBE, Hiroshi MITOMO, Noriaki SEKO a Masao TAMADA. Effect of hydrophilic and hydrophobic monomers grafting on microbial poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* [online]. 2009, vol. 40, issue 4, s. 413-417 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1016/j.jtice.2008.10.005. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [47] NGUYEN, Sophie, Robert H. MARCHESSAULT a Baki HAZER. Synthesis and Properties of Graft Copolymers Based on Poly(3-hydroxybutyrate) Macromonomers. *Macromolecular Bioscience* [online]. 2004-03-15, vol. 4, issue 3, s. 262-268 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1002/mabi.200300088. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [48] ARSLAN, Hülya, Nazlı YEŞİLYURT a Baki HAZER. The synthesis of poly(3-hydroxybutyrate)-g-poly(methylmethacrylate) brush type graft copolymers by atom transfer radical polymerization method. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2007-11-05, vol. 106, issue 3, s. 1742-1750 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1002/app.26870. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [49] ZHIJIANG, Cai, Hou CHENGWEI a Yang GUANG. Crystallization behavior, thermal property and biodegradation of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(ethylene glycol) grafting copolymer. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 2011, vol. 96, issue 9, s. 1602-1609 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1016/j.polymdegradstab.2011.06.001. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [50] CHOI, Jae Shin a Won Ho PARK. Effect of biodegradable plasticizers on thermal and mechanical properties of poly(3-hydroxybutyrate). *Polymer Testing* [online]. 2004, vol. 23, issue 4, s. 455-460 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2003.09.005. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [51] EL-HADI, A, R SCHNABEL, E STRAUBE, G MÜLLER a S HENNING. Correlation between degree of crystallinity, morphology, glass temperature, mechanical properties and biodegradation of poly (3-hydroxyalkanoate) PHAs and their blends. *Polymer Testing* [online]. 2002, vol. 21, issue 6, s. 665-674 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1016/S0142-9418(01)00142-8. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [52] HONG, Shinn-Gwo, Tsung-Kai GAU a Shih-Che HUANG. Enhancement of the crystallization and thermal stability of polyhydroxybutyrate by polymeric additives. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* [online]. 2011, vol. 103, issue 3, s. 967-975 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1007/s10973-010-1180-3. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)
- [53] WANG, Liang, Wenfu ZHU, Xiaojuan WANG, Xianyu CHEN, Guo-Qiang CHEN a Kaitian XU. Processability modifications of poly(3-hydroxybutyrate) by plasticizing, blending, and stabilizing. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2008-01-05, vol. 107, issue 1, s. 166-173 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1002/app.27004. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [54] BIBERS, I., V. TUPUREINA, A. DZENE a M. KALNINS. Improvement of the deformative characteristics of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate by plasticization. *Mechanics of Composite Materials* [online]. 1999, vol. 35, issue 4, s. 357-364 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1007/BF02259726. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)

- [55] PERSICO, Paola, Veronica AMBROGI, Antonio BARONI, Gabriella SANTAGATA, Cosimo CARFAGNA, Mario MALINCONICO a Pierfrancesco CERRUTI. Enhancement of poly(3-hydroxybutyrate) thermal and processing stability using a bio-waste derived additive. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2012, vol. 51, issue 5, s. 1151-1158 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2012.08.036. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [56] WITHEY, R.E., J.N. HAY a Mehlika BORCAKLI. The effect of seeding on the crystallisation of poly(hydroxybutyrate), and co-poly(hydroxybutyrate-co-valerate). *Polymer* [online]. 1999, vol. 40, issue 18, s. 5147-5152 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1016/S0032-3861(98)00732-0. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [57] ZHU, Chengjun, Christopher T. NOMURA, Joseph A. PERROTTA, Arthur J. STIPANOVIC a James P. NAKAS. The effect of nucleating agents on physical properties of poly-3-hydroxybutyrate (PHB) and poly-3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate (PHB-co-HV) produced by *Burkholderia cepacia* ATCC 17759. *Polymer Testing* [online]. 2012, vol. 31, issue 5, s. 579-585 [cit. 2014-11-04]. DOI: 10.1016/j.polymertesting.2012.03.004. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [58] UTRACKI, L. A. *Polymer blends*. Shawbury, Shrewsbury: Rapra Technology Ltd, 2000. ISBN 18-595-7230-8.
- [59] GOH, S.H a X NI. A completely miscible ternary blend system of poly(3-hydroxybutyrate), poly(ethylene oxide) and polyepichlorohydrin. *Polymer* [online]. 1999, vol. 40, issue 20, s. 5733-5735 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1016/S0032-3861(99)00155-X. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [60] T. H., M. Z. EL-SABEE, K. N. ABD-EL-NOUR, G. R. SAAD, El-Sayed A. EL-SAYED a E. A. GAFAFAR. Miscibility and the specific interaction of polyhydroxybutyrate blended with polyvinylacetate and poly(vinyl acetate-co-vinyl alcohol) with some biological applications. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2002-11-28, vol. 86, issue 9, s. 2363-2374 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1002/app.11137. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [61] LIU, Jieping a Bernd-J. JUNGnickel. Crystallization and morphology of poly(vinylidene fluoride)/poly(3-hydroxybutyrate) blends. I. Spherulitic morphology and growth by polarized microscopy. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* [online]. 2003-05-01, vol. 41, issue 9, s. 873-882 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1002/polb.10454. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [62] GUNARATNE, L.M. Wasantha K. a R.A. SHANKS. Miscibility, melting, and crystallization behavior of poly(hydroxybutyrate) and poly(D,L-lactic acid) blends. *Polymer Engineering* [online]. 2008, vol. 48, issue 9, s. 1683-1692 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1002/pen.21051. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [63] KABE, Taizo, Takeharu TSUGE, Ken-ichi KASUYA, Akio TAKEMURA, Takaaki HIKIMA, Masaki TAKATA a Tadahisa IWATA. Physical and Structural Effects of Adding Ultrahigh-Molecular-Weight Poly[(R)-3-hydroxybutyrate] to Wild-Type Poly[(R)-3-hydroxybutyrate]. *Macromolecules* [online]. 2012-02-28, vol. 45, issue 4, s. 1858-1865 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1021/ma202285c. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [64] CHENG, Guoxiang, Zhijiang CAI a Ling WANG. Biocompatibility and biodegradation of poly(hydroxybutyrate)/poly(ethylene glycol) blend films. *Journal of Materials*

- Science: Materials in Medicine* [online]. 2003, vol. 14, issue 12, s. 1073-1078 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1023/B:JMSM.0000004004.37103.f4. Dostupné z: [link.springer.com](http://link.springer.com)
- [65] CHEN, Guo-Qiang a Rong-Cong LUO. Polyhydroxyalkanoate Blends and Composites. *Biodegradable Polymer Blends and Composites from Renewable Resources* [online]. Hoboken, NJ, USA: John Wiley, 2008-10-08 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1002/9780470391501.ch8. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [66] CALVÃO, Patrícia S., Jean-Marc CHENAL, Catherine GAUTHIER, Nicole R. DEMARQUETTE, Agnès BOGNER a Jean Yves CAVAILLE. Understanding the mechanical and biodegradation behavior of poly(hydroxybutyrate)/rubber blends in relation to their morphology. *Polymer International* [online]. 2012, vol. 61, issue 3, s. 434-441 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1002/pi.3211. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [67] IORDANSKII, Alexey L., Anatoliy A. OL'KHOV, Yulia N. PANKOVA, Anton P. BONARTSEV, Garina A. BONARTSEVA a Vladimir O. POPOV. Hydrophilicity Impact upon Physical Properties of the Environmentally Friendly Poly(3-hydroxybutyrate) Blends: Modification Via Blending. *Macromolecular Symposia* [online]. 2006, vol. 233, issue 1, s. 108-116 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1002/masy.200690005. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [68] EL-TAWEEL, S. H. a B. STOLL. Spherulitic Growth Rate of Blends of Polyhydroxybutyrate (PHB) with Oligomeric Atactic PHB-diol. *Journal of Macromolecular Science, Part B* [online]. 2012, vol. 51, issue 3, s. 567-579 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1080/00222348.2011.609781. Dostupné z: [tandfonline.com](http://tandfonline.com)
- [69] LOTTI, Nadia, Maria PIZZOLI, Giuseppina CECCORULLI a Mariastella SCANDOLA. Binary blends of microbial poly(3-hydroxybutyrate) with polymethacrylates. *Polymer* [online]. 1993, vol. 34, issue 23, s. 4935-4940 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1016/0032-3861(93)90022-3. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [70] AVELLA, Maurizio, Ezio MARTUSCELLI, Giuseppe ORSELLO, Maria RAIMO a Beniamino PASCUCCI. Poly(3-hydroxybutyrate)/poly(methyleneoxide) blends: thermal, crystallization and mechanical behaviour. *Polymer* [online]. 1997, vol. 38, issue 25, s. 6135-6143 [cit. 2014-11-08]. DOI: 10.1016/S0032-3861(97)00166-3. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [71] KUMAGAI, Yoshiharu a Yoshiharu DOI. Enzymatic degradation of binary blends of microbial poly(3-hydroxybutyrate) with enzymatically active polymers. *Polymer Degradation and Stability* [online]. 1992, vol. 37, issue 3, s. 253-256 [cit. 2014-11-09]. DOI: 10.1016/0141-3910(92)90167-4. Dostupné z: [linkinghub.elsevier.com](http://linkinghub.elsevier.com)
- [72] ARKIN, Ali Hakan a Baki HAZER. Chemical Modification of Chlorinated Microbial Polyesters. *Biomacromolecules* [online]. 2002, vol. 3, issue 6, s. 1327-1335 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1021/bm020079v. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [73] ARKIN, Ali Hakan, Baki HAZER a Mehlika BORCAKLI. Chlorination of Poly(3-hydroxy alkanoates) Containing Unsaturated Side Chains. *Macromolecules* [online]. 2000, vol. 33, issue 9, s. 3219-3223 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1021/ma991535j. Dostupné z: [pubs.acs.org](http://pubs.acs.org)
- [74] CHEN, Cheng, Shuwen PENG, Bin FEI, Yugang ZHUANG, Lisong DONG, Zhiliu FENG, Shan CHEN a Hongmei XIA. Synthesis and characterization of maleated

- poly(3-hydroxybutyrate). *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2003-04-18, vol. 88, issue 3, s. 659-668 [cit. 2014-12-30]. DOI: 10.1002/app.11771. Dostupné z: [doi.wiley.com](http://doi.wiley.com)
- [75] SEPE, M. P. *Thermal analysis of polymers*. Shawbury, Shrewsbury: Rapra Technology Ltd, 1997. ISBN 18-595-7107-7
- [76] WUNDERLICH, Bernhard. *Differential Scanning Calorimetry, Second Edition* By G. W. Höhne (Retired from the Universität Ulm), W. F. Hemminger (Physikalisch-Technische Bundesanstalt), and H.-J. Flammersheim (Universität Jena). Springer Verlag: 10.1021/ja0336271.
- [77] MENARD, Kevin P. *Dynamic mechanical analysis a practical introduction*. 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008. ISBN 978-142-0053-135.
- [78] DAVIS, Edited by J.R. *Tensile testing*. 2nd ed. Materials Park: ASM International, 2004. ISBN 08-717-0806-X.

## 7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

2CIPHBDCI	2,4,4,4-tetrachloro-3-hydroxybutyrát
2CIPHBTCI	2,4,4-trichloro-3-hydroxybutyrát
3HV (HV)	3-hydroxyvalerová kyselina
4HB	4-hydroxybutanová kyselina
AIBN	azobisisobutylnitril
CAB	butyro-acetát celulózy
CAP	aceto-propionát celulózy
CoA	koenzym A
DMA	dynamicko-mechanická analýza
DSC	diferenční kompenzační kalorimetrie
DTA	diferenční termická analýza
EDX	energieově-disperzní analýza rentgenového záření
FTIR	infračervená spektroskopie s fourierovou transformací
HDI	hexamethylen diizokyanát
HMWPHB	poly(3-hydroxybutyrát) o vysoké molekulové hmotnosti
LDPE	nízkohustotní poly(ethylen)
MA	maleinanhydrid
mcl-PHA	polyhydroxyalkanoáty se středně dlouhým řetězcem
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
P3HB4HB	poly(3-hydroxybutyrát-co-4-hydroxybutyrát)
PBS	poly(butylensukcinát)
PCL	poly( $\epsilon$ -kaprolakton)
PE	poly(ethylen)
PEA	poly(ethylenadipát)
PEG	poly(ethylen glykol)
PEO	poly(ethylenoxid)
PET	poly(ethylen tereftalát)
PHB, P3HB	poly(3-hydroxybutyrát)
PHBCI	4-chloro-3-hydroxybutyrát
PHBDCI	4,4-dichloro-3-hydroxybutyrát
PHBHHx	poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyhexanoát)
PHBTCI	4,4,4-trichloro-3-hydroxybutyrát
PHBV	poly(3-hydroxybutyrát-co-3-hydroxyvalerát)
PIP	poly(izopren)
PIS	poly(izosorbidsukcinát)
PMMA	poly(methylmethakrylát)
PMO	poly(methylen-oxid)
PP	poly(propylen)
PPL	poly(propio-lakton)
PS	poly(styren)
PVAc	poly(vinylacetát)
PVAI	poly(vinylalkohol)
Scl-PHA	polyhydroxyalkanoáty s krátkým řetězcem

SEM  
TGA  
UV

rastrovací elektronový mikroskop  
termogravimetrická analýza  
ultrafialový

## **8 SEZNAM PŘÍLOH**

**Příloha 1** Endotermní píky tání chlorovaného PHB14 a PHB14

**Příloha 2** Termogramy krystalizačního chování PHB14 pro analýzu neizotermické krystalizace

**Příloha 3** Termogramy krystalizačního chování PHB14\_Cl pro analýzu neizotermické krystalizace

**Příloha 4** Endotermní píky tání chlorovaného PHB1 a PHB1\_F

**Příloha 5** Termogramy krystalizačního chování PHB1 pro analýzu neizotermické krystalizace

**Příloha 6** Termogramy krystalizačního chování PHB1\_F pro analýzu neizotermické krystalizace

**Příloha 7** Dynamicko mechanická analýza vzorku PHB1\_F\_1

**Příloha 8** Dynamicko mechanická analýza vzorku PHB1\_F\_2

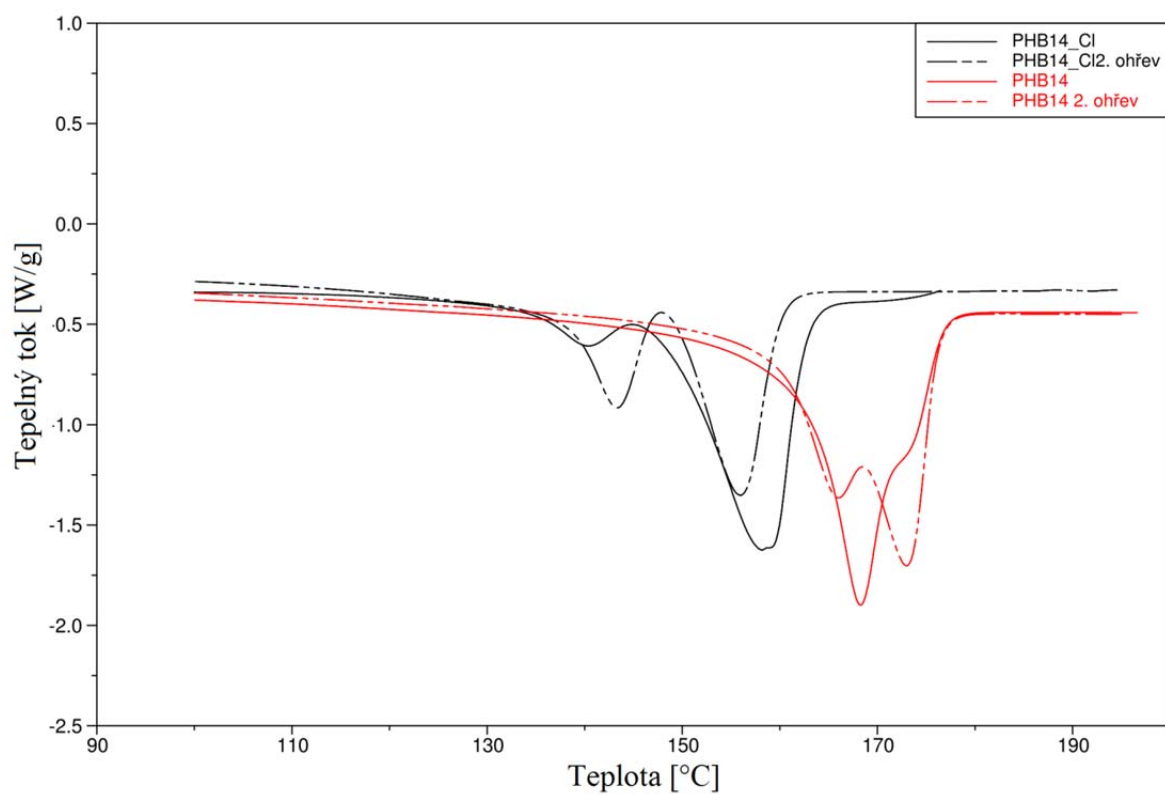
**Příloha 9** Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_1

**Příloha 10** Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_2

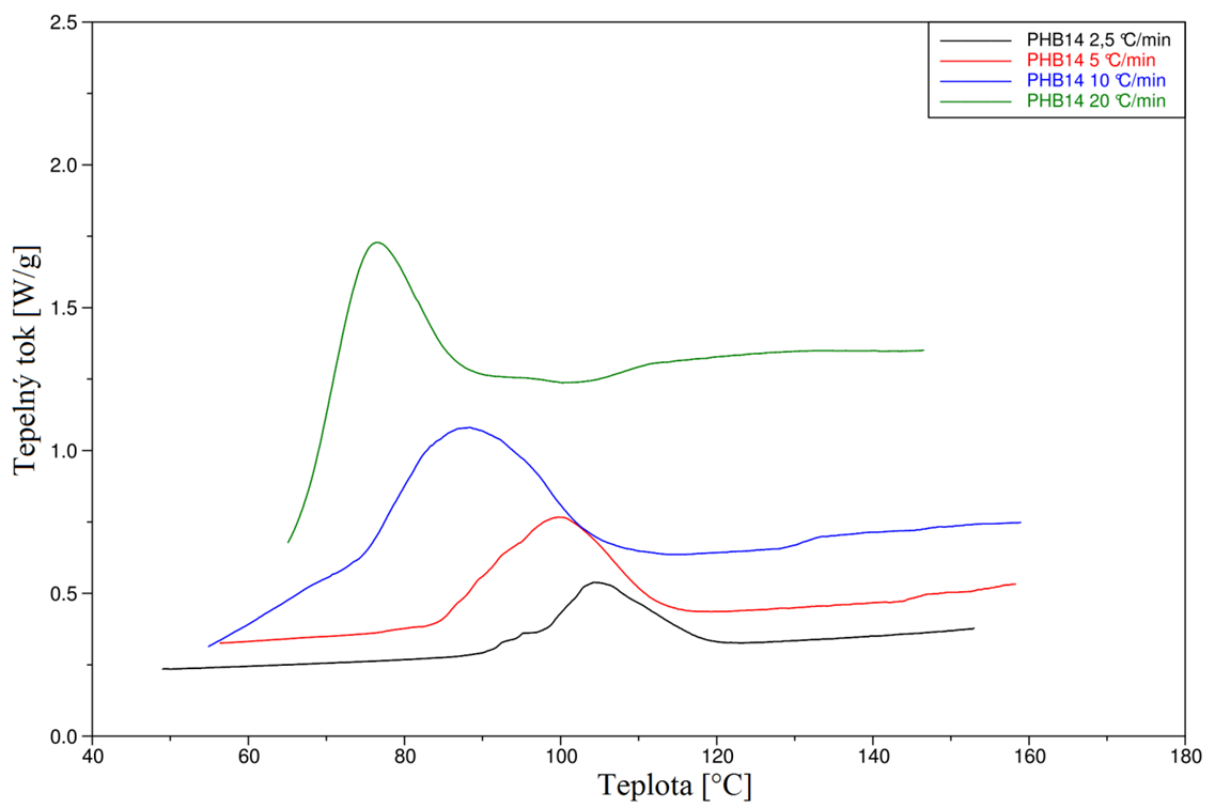
**Příloha 11** Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_3

**Příloha 12** Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_4

## 9 PŘÍLOHY

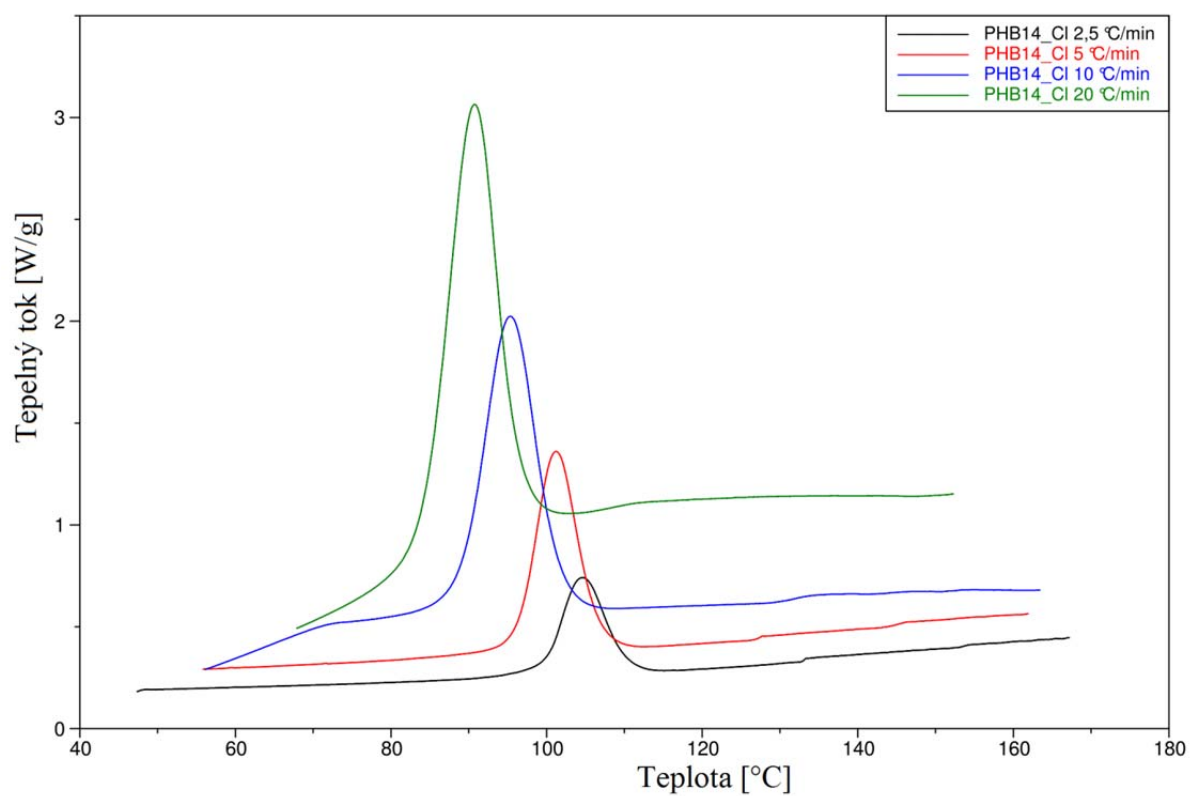


*Příloha 1 Endotermní píky tání chlorovaného PHB14 a PHB14*

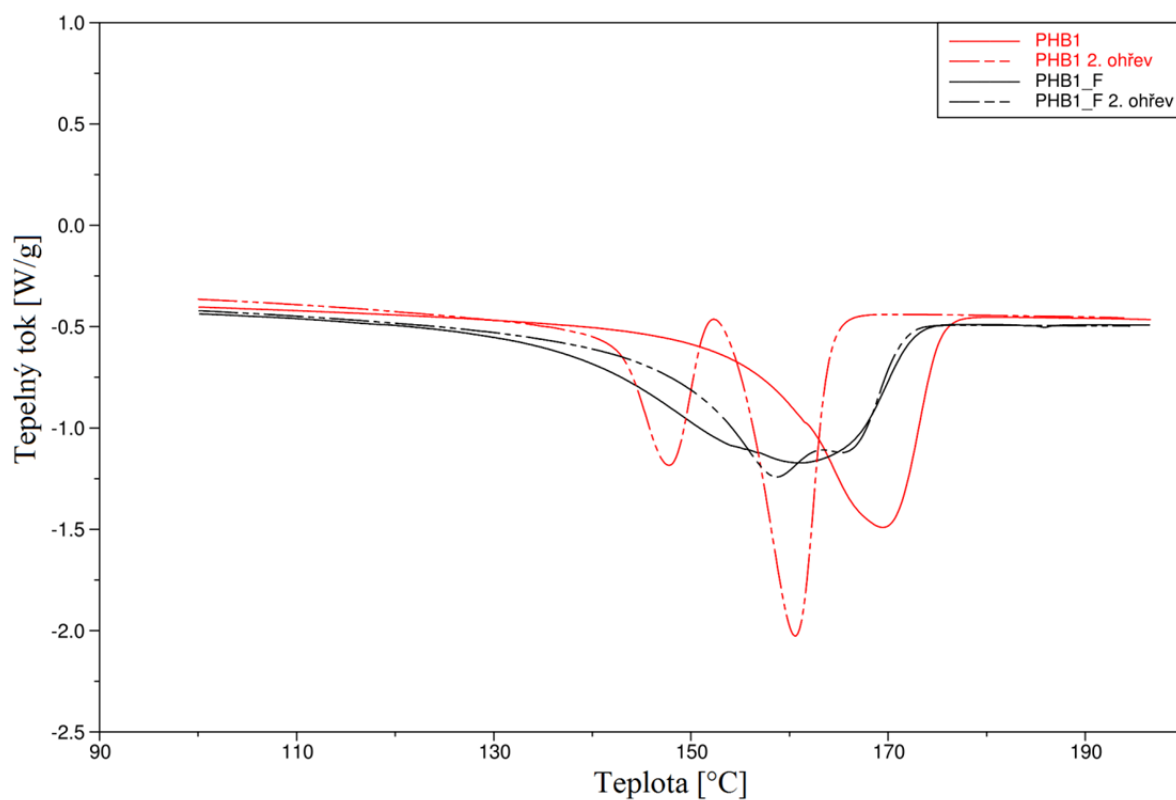


*Příloha 2 Termogramy krystalizačního chování PHB14 pro analýzu neizotermické krystalizace*

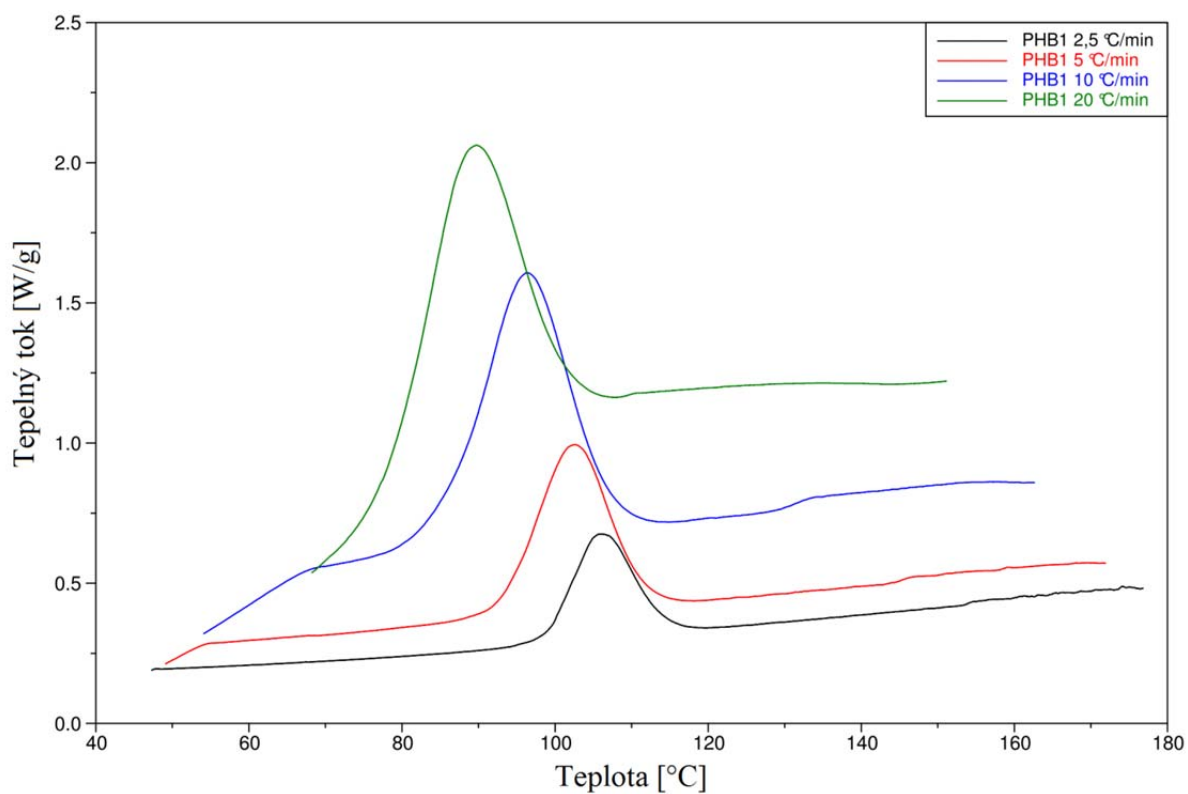




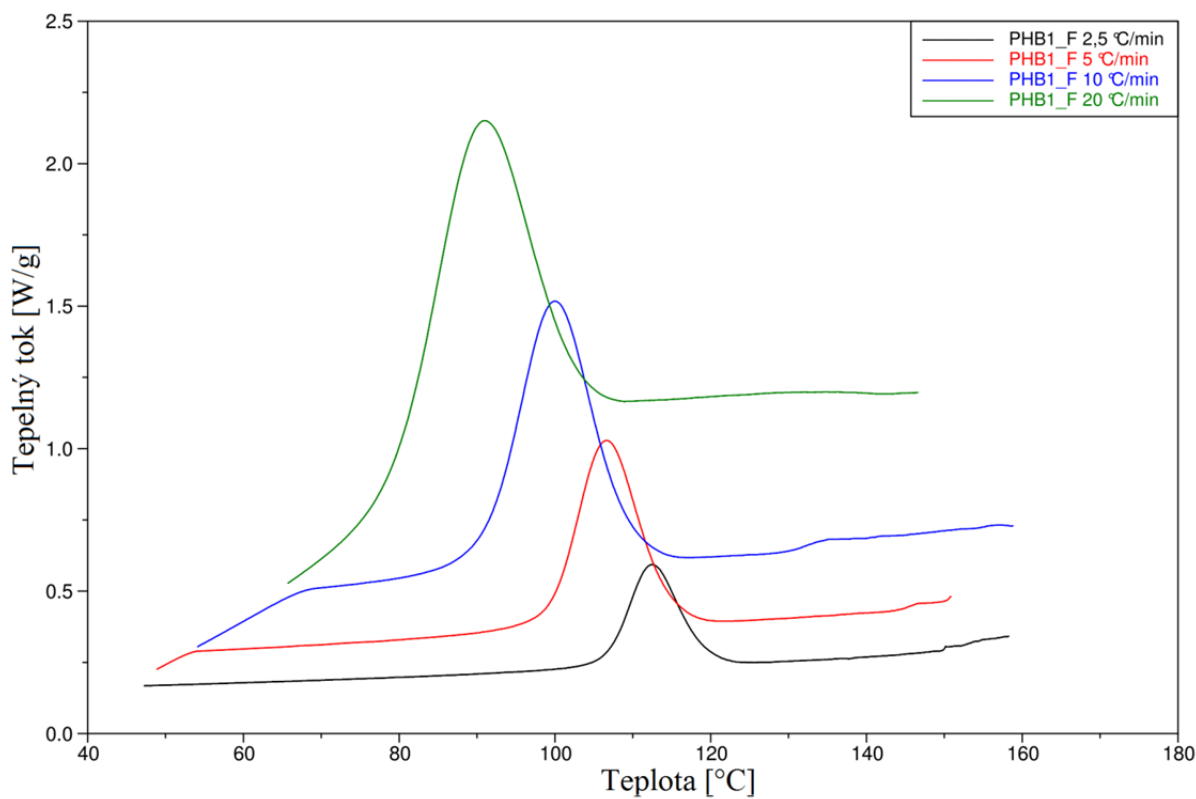
Příloha 3 Termogramy krystalizačního chování PHB14\_Cl pro analýzu neizotermické krystalizace



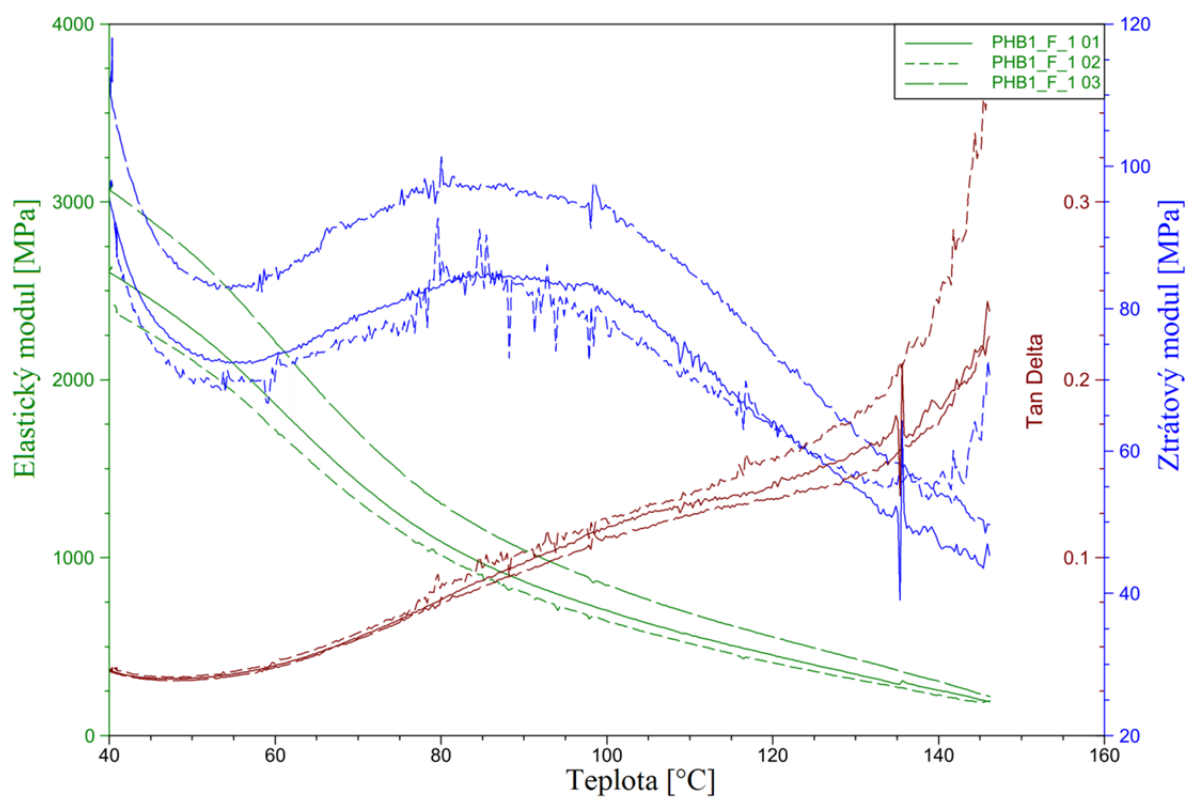
Příloha 4 Endotermní píky tání chlorovaného PHB1 a PHB1\_F



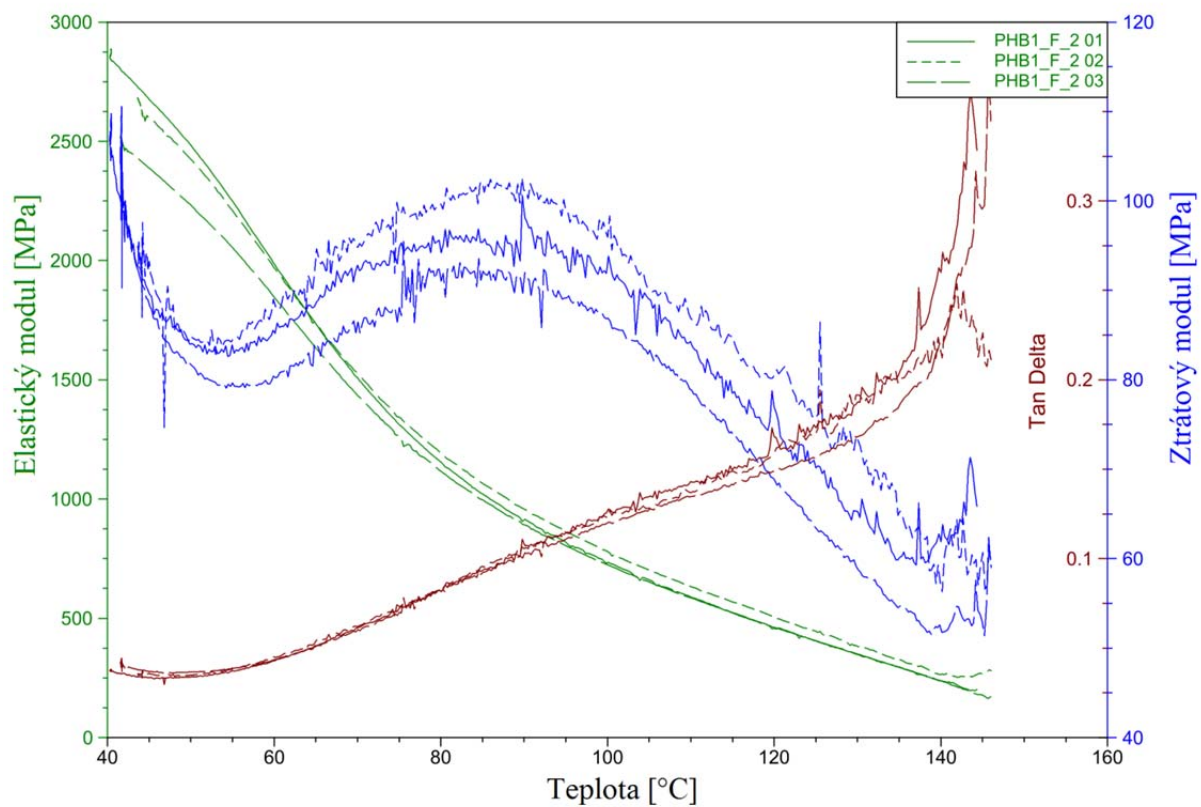
*Příloha 5 Termogramy krystalizačního chování PHB1 pro analýzu neizotermické krystalizace*



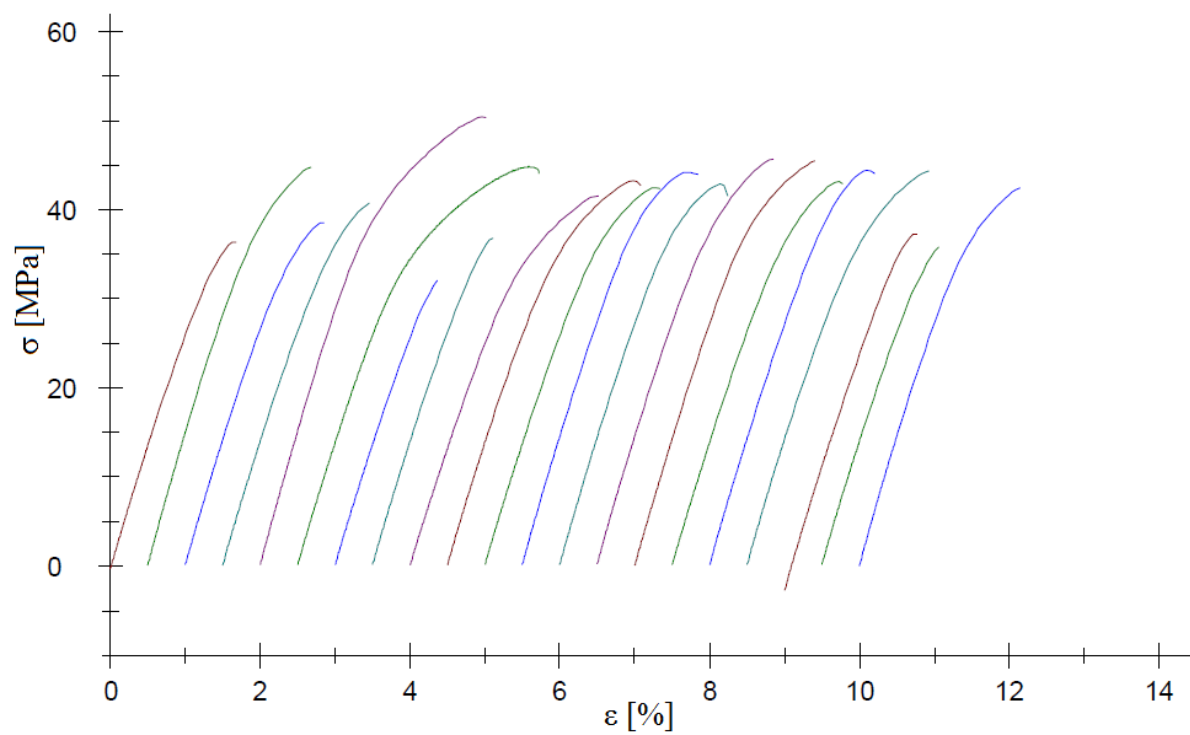
*Příloha 6 Termogramy krystalizačního chování PHB1\_F pro analýzu neizotermické krystalizace*



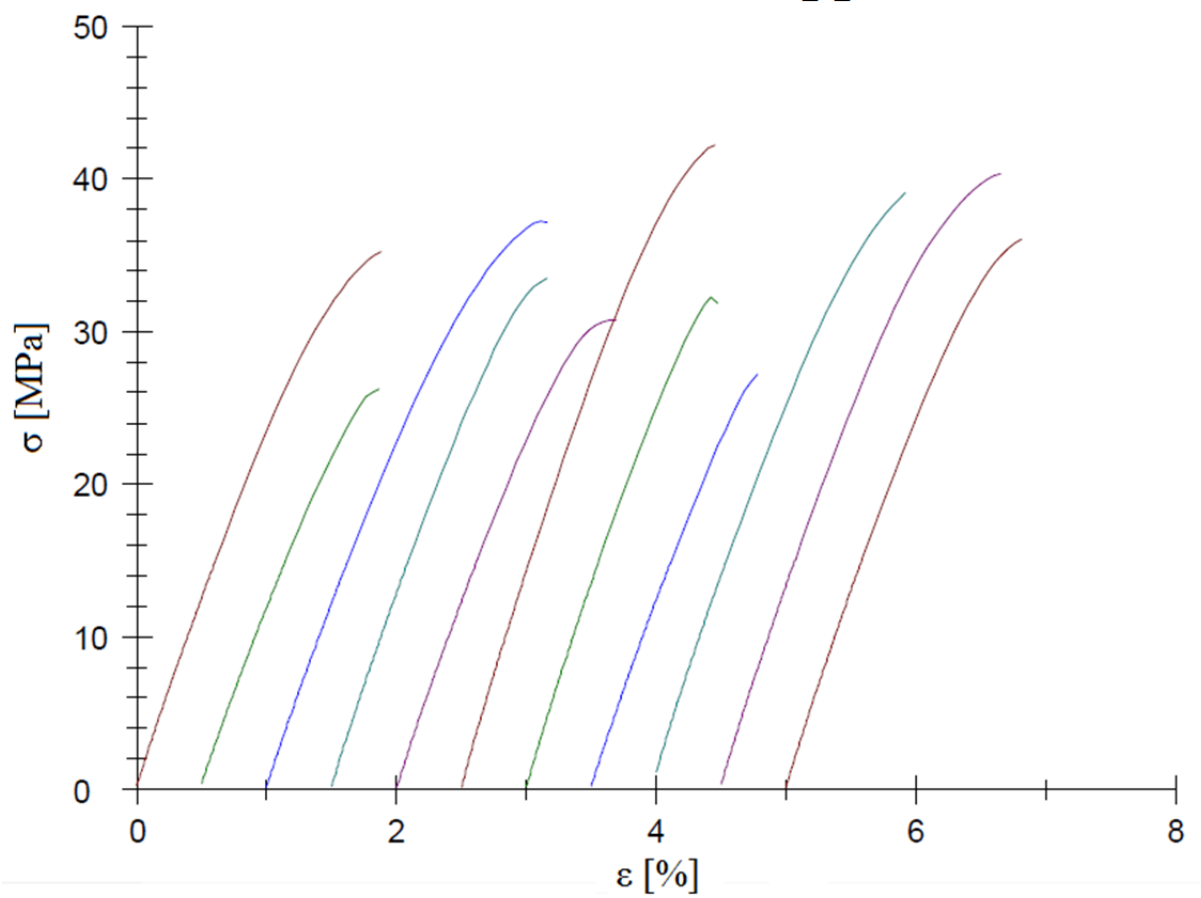
Příloha 7 Dynamiccko mechanická analýza vzorku PHB1\_F\_1



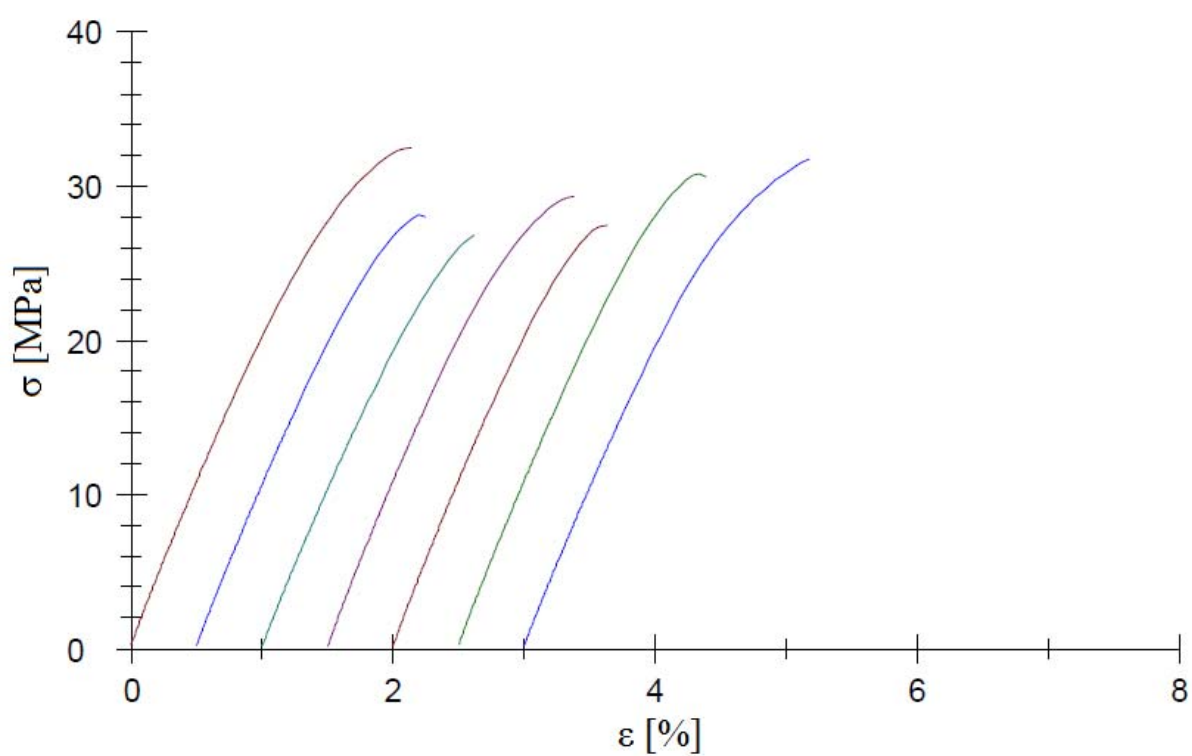
Příloha 8 Dynamiccko mechanická analýza vzorku PHB1\_F\_2



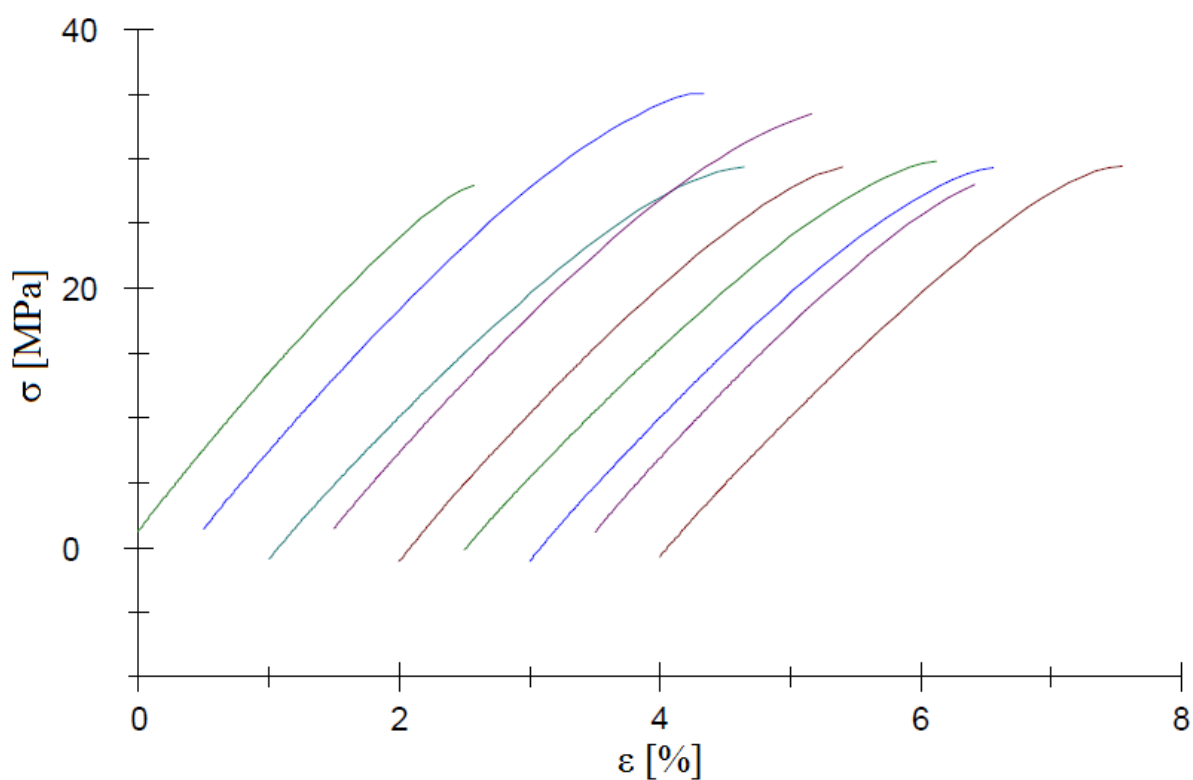
*Příloha 9 Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_1*



*Příloha 10 Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_2*



*Příloha 11 Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_3*



*Příloha 12 Tahová křivka vzorku PHB1\_F\_4*